

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**“Formulación de una crema dermocosmética a base de
Mauritia flexuosa L. f. y *Copaifera reticulata* var. peruviana
con efecto regenerador de la piel lesionada en ratones *Mus
musculus* Balb c.”**

TESIS

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Joselyn Martha Yaringaño Moreano

ASESOR

Q.F. Bertha Jurado Teixeira

Lima-Perú

2015

DEDICATORIA

A Dios que me guía en todos mis caminos y endereza mis veredas.

Porque Jehová da la sabiduría, y de su boca viene el conocimiento y la inteligencia. El provee de sana sabiduría a los rectos; es escudo a los que caminan rectamente. Es el que guarda las veredas del juicio, y preserva el camino de sus santos. Entonces entenderás justicia, juicio y equidad, y todo buen camino.

*Y si tuviese profecía, y
entendiese todos los misterios y toda
ciencia, y si tuviese toda la fe, de tal
manera que trasladase los montes, y no
tengo amor, nada soy.*

*El amor es sufrido, es benigno; el amor
no tiene envidia, el amor no es
jactancioso, no se envanece; no hace
nada indebido, no busca lo suyo, no se
irrita, no guarda rencor; no se goza de
la injusticia, mas se goza de la verdad.*

*El amor nunca deja de ser; pero las
profecías se acabarán, y cesarán las
lenguas, y la ciencia acabará.*

1 Corintios 13, 2-8

AGRADECIMIENTOS

A mi madre Martha Moreano por sus sabios consejos, por estar siempre ahí y su apoyo constante e incondicional desde el inicio de mi carrera profesional.

A mi padre César Yaringaño por mostrarme que ser exigente con uno mismo, tener metas claras y actuar en forma correcta te hará una persona honorable. Por su apoyo desde el inicio de mi carrera.

A mi hermana Paola por ser mi confidente en nuevos retos y su amistad verdadera.

A mi asesora, la profesora Bertha y mi co-asesora, la profesora Eva por su paciencia, apoyo, recomendaciones y aliento para seguir adelante en el desarrollo del presente trabajo.

Al profesor Nelson Bautista por apoyarme en la realización de los análisis microbiológicos.

Al vicerrectorado de investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su labor constante en el apoyo a la realización de tesis de pregrado, las cuales se convierten en carta de presentación a la sociedad.

A Dios por sobre todas las cosas, por poner en mi camino personas buenas quienes desinteresadamente y con el ímpetu de adquirir nuevos conocimientos me apoyaron en los ensayos realizados: Luis y Santiago.

Al honorable jurado examinador y calificador:

Dr. Félix Enrique Saavedra Nizama

Dr. Carlos Alejandro Bell Cortez

Dr. Mario Carhuapoma Yance

Dra. Yadira Fernández Jerí

Por sus invaluable consejos y observaciones que terminaron de dar forma a esta corta obra, por su dedicación a la enseñanza universitaria, por su energía para nuevos retos y promoción de la investigación.

ÍNDICE

RESUMEN

SUMMARY

I.	INTRODUCCIÓN	1
1.1.	OBJETIVO GENERAL	3
1.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.3.	HIPÓTESIS	3
II.	GENERALIDADES	4
2.1.	<i>Mauritia flexuosa</i> L. f.	4
2.2.	<i>Copaifera reticulata</i> var. <i>peruviana</i>	8
2.3.	La piel	11
2.4.	Cicatrización	13
2.5.	Cremas dermocosméticas	14
2.6.	Estabilidad de las cremas	15
2.7.	Estabilidad Cosmética	16
2.8.	Estabilidad Acelerada	16
III.	PARTE EXPERIMENTAL	19
IV.	RESULTADOS	28
V.	DISCUSIÓN	40
VI.	CONCLUSIONES	49
VII.	RECOMENDACIONES	50
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
IX.	ANEXOS	57

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo principal formular una crema dermocosmética a base de *Mauritia flexuosa* L. f. y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* y comprobar su efecto regenerador en piel lesionada de ratones *Mus musculus* Balb c. Se evaluaron las características fisicoquímicas del aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba. Posteriormente se diseñaron tres formulaciones: crema a base de aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje”, crema a base de oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba” y una mezcla de ambas, en las cuales se realizaron estudios de estabilidad acelerada a la temperatura de 40 °C y 5 °C durante 120 días teniendo como parámetros análisis organolépticos (aspecto, color y olor), fisicoquímicos (pH, viscosidad) y carga microbiológica total. El efecto regenerador de la piel lesionada de las cremas dermocosmética se evaluó mediante el método tensiométrico y corroborado por estudios histológicos. Se emplearon ratones *Mus musculus* Balb c de 33 ± 2.7 g de peso y como tratamientos las cremas dermocosméticas a base de aguaje al 8%, copaiba al 10% y una mezcla de ambas a las mismas concentraciones mencionadas, comparando los resultados con el grupo control (sin tratamiento) y con el grupo tratado con una crema comercial Cicalfate. Se obtuvo mayor efecto regenerador de la piel lesionada con la crema dermocosmética a base de aguaje y copaiba comprobada por presentar mayor porcentaje de cicatrización 57.4%, el cual se corroboró mediante el estudio histológico de la piel regenerada, donde se observaron inicios de reepitelización, tejido de granulación y aumento de colágeno en la dermis.

Palabras clave: *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje”, *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba”, crema dermocosmética, efecto regenerador.

SUMMARY

This present study was main objective to formulate a dermocosmetic cream based *Mauritia flexuosa* L. f. and *Copaifera reticulata* var. *peruviana* and to check its regenerative effect on damaged skin of mice *Mus musculus* Balb c. The physicochemical characteristics aguaje oil and copaiba oleoresin were evaluated. Subsequently, three formulations were designed: cream based oil of *Mauritia flexuosa* L. f. "aguaje", cream based oleoresin of *Copaifera reticulata* var. *peruviana* "copaiba" and a mixture of both, which performed accelerated stability studies at the temperature of 40 °C and 5 °C for 120 days having as parameters organoleptic analysis (appearance, color and odor), physicochemical (pH, viscosity) and load microbial total. The regenerating effect in the injured skin was assessed by method tensiometric and corroborated by histological studies. *Mus musculus* Balb c mice of 33 ± 2.7 g of weight were used and as treatments dermocosmetic creams based of aguaje 8%, copaiba 10% and a mixture of both at the same concentrations mentioned, comparing the results with the control group (untreated) and treated group with a commercial cream Cicalfate. The highest regenerative effect of damaged skin was obtained with the dermocosmetic cream based of aguaje and copaiba proven by to present higher percentage of healing 57.4%, which was confirmed by histological study of the regenerated skin, where were observed early epithelialization, tissue granulating and increasing collagen in the dermis.

Key words: *Mauritia flexuosa* L. f. "aguaje", *Copaifera reticulata* var. *peruviana* "copaiba", dermocosmetic cream, regenerating effect.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la finalidad de la dermocosmética consiste en conservar el alto grado de funcionalidad de la piel, que constantemente se halla expuesta a las influencias ambientales más diversas y a la pérdida de sustancias esenciales¹, debido a ello surgen los productos dermocosméticos que son aquellos preparados que solucionan o controlan un desequilibrio cutáneo ayudando de esta manera a reestablecer la estructura de la piel, sin dejar de lado la belleza².

Por otra parte cuando la piel está herida, irritada, extremadamente seca o presenta grietas es fundamental potenciar la regeneración de la piel, la cual consiste en restablecer los tejidos dando como resultado final la formación de un tejido cicatrizal o un tejido igual al existente previo a la injuria³.

Las nuevas tendencias en la industria cosmética son el uso y aprovechamiento de insumos naturales; frente a ello, existe la necesidad de investigar y contribuir al aprovechamiento de nuestros recursos naturales.

El aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. es rico en carotenoides, α -tocoferol y en ácidos grasos⁴, en especial el ácido oleico que ayudan a lubricar y regenerar la barrera hidrolipídica de la piel, esta sustancia oleosa forma una capa protectora sobre la piel ejerciendo su acción hidratante, mejorando la hidratación del estrato córneo, reduciendo la pérdida transepidermal, manteniendo la suavidad y elasticidad de la piel. Por su alto contenido de β -caroteno, puede ser usado en la formulación de bloqueadores solares⁵. Debido a lo mencionado el aguaje posee excelente potencial para ser usado como ingrediente dermocosmético.

La oleorresina de copaiba está constituida por una parte resinosa (cerca de 55-60% de peso total) y una parte volátil (cerca de 40-50% de peso total) que está formada de aceites esenciales⁴. Hoy en día la oleorresina es utilizada en la industria de perfumes como fijador y aromatizante, pues posee una fragancia fresca y acre que combina con las notas florales. También es utilizada en preparaciones cosméticas como jabones, lociones hidratantes y capilares, pues

posee propiedades emolientes⁴, antibacterianas^{6,7}, antiinflamatorias⁸ y cicatrizantes⁹⁻¹¹.

El presente estudio tuvo como objetivo principal formular una crema dermocosmética a base de *Mauritia flexuosa* L. f. y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* y comprobar su efecto regenerador en piel lesionada de ratones *Mus musculus* Balb c. Se diseñaron tres diferentes formulaciones: crema a base de aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje”, crema a base de oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba” y por último la asociación de estas dos especies vegetales crema a base del aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje” y oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba”. Además se comparó con un grupo patrón (Cicalfate crema reparadora).

Todas las preparaciones cosméticas al estar constituidas por ingredientes naturales o sintéticos deben ser sometidas a ensayos de estabilidad antes de ponerlos a disposición del consumidor; la estabilidad garantiza la calidad y seguridad de los mismos. Además proporciona indicadores sobre el comportamiento de un producto en un determinado tiempo y frente a diferentes condiciones ambientales a las que puede ser sometido¹². Por lo tanto se realizó la estabilidad acelerada de las diferentes formulaciones, donde se efectuaron ensayos organolépticos (aspecto, color y olor), ensayos fisicoquímicos (pH, viscosidad) y carga microbiológica total según la guía de estabilidad de productos cosméticos-ANVISA.

1.1. OBJETIVO GENERAL

- Formular una crema dermocósmetica a base de *Mauritia flexuosa* L. f. y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* y comprobar su efecto regenerador en piel lesionada de ratones *Mus musculus* Balb c.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar las características fisicoquímicas del aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje” y la oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba”.
- Formular las cremas dermocósméticas a base de *Mauritia flexuosa* L. f., *Copaifera reticulata* var. *peruviana*, y una mezcla de ambas.
- Realizar un estudio de estabilidad acelerada de los tres tipos de cremas dermocósméticas.
- Determinar el efecto regenerador en la piel lesionada con la crema dermocósmética a base de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje” y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba”.

1.3. HIPÓTESIS

- La crema dermocósmética a base de *Mauritia flexuosa* y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* tiene efecto regenerador en piel lesionada de ratones *Mus musculus* Balb c.

II. GENERALIDADES

2.1. *Mauritia flexuosa* L. f.

2.1.1. Clasificación taxonómica

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Subclase: Arecidae

Orden: Arecales

Familia: Arecaceae

Género: *Mauritia*

Especie: ***Mauritia flexuosa*** L. f.

Nombre vulgar: «aguaje»

Fuente¹³

2.1.2. Descripción morfológica

El aguaje (*Mauritia flexuosa* L. f.), también llamado buriti, en Brasil y moriché, en Colombia y Venezuela, fue la primera palmera amazónica descrita por la ciencia, en 1781. Es una palmera dioica, la hembra es la que produce el fruto, pero necesita de un “macho” para ser polinizada. En su etapa adulta, el aguaje puede alcanzar hasta los 35 m de alto, tallo o estípite recto, liso, cilíndrico con un diámetro de 30-60 cm, raíces primarias que luego desarrollan horizontalmente hasta 40 m, raíces secundarias aeríferas o neumatóforos que le permiten respirar en los pantanos; hojas compuestas, conformadas aproximadamente por 200 segmentos foliares. Las flores femeninas son de color anaranjado y se tornan más brillantes y fragantes durante la etapa de reproducción; las flores masculinas también son anaranjadas, con espiguetas tipo piña¹⁴.

Desarrolla en promedio ocho racimos por planta y produce cientos de frutos de forma ovalada de aproximadamente 6 cm de largo por 4 cm de diámetro en promedio, cubiertos por escamas de color rojo vino. El mesocarpio rinde 12% de aceite y la almendra un 5%¹⁵.

El aguaje produce en promedio ocho racimos por palmera, y cada racimo produce aproximadamente 725 frutos, por lo que la producción media estimada es de 290 kg por palmera. Actualmente es considerada como una planta promisoriosa, que puede mejorar la calidad de vida de los hombres y mujeres que viven en la Amazonía¹⁵.



Figura 1. *Mauritia flexuosa* L. f.¹²

Rojas¹⁶ agrega que en la región de Loreto-Perú, esta palmera presenta variabilidad morfológica principalmente por sus frutos, los cuales se clasifican por el color del mesocarpio: “amarillo” (mesocarpio de color amarillo), “color” (mesocarpio color rojo en la parte externa y amarillo en la parte interna) y “shambo” (mesocarpio color rojo).

2.1.3. Ubicación geográfica

La distribución geográfica del aguaje es principalmente restringida a Sudamérica, se encuentra en los países de Venezuela, Trinidad, Las Guyanas, Ecuador, Perú, Bolivia, Brasil, incluyendo el lado oriental de los Andes de Colombia¹⁴.

Es una palmera nativa de la región Amazónica que se encuentra en los departamentos de San Martín, Huánuco, Madre de Dios, Cuzco, Loreto, Ucayali, Pasco, Amazonas y Junín¹⁷⁻¹⁹. Solo en la Reserva Nacional Pacaya-Samiria se han registrado aproximadamente un millón de hectáreas¹⁴.

2.1.4. Composición química del aceite

Tabla N° 1. Composición de ácidos grasos de aceites extraídos del mesocarpio de los frutos de *Mauritia flexuosa* L. f.

% ácidos grasos	<i>M. flexuosa</i> “shambo” Vásquez, 2010	<i>M. flexuosa</i> “shambo” Trevejos, 2003	<i>M. flexuosa</i> Quispe, 2009
16:0 (Palmitico)	21,68	17,3	15,32
16:1 ω -7 (palmitoleico)	0,27	0,3	0,13
18:0 (Estéarico)	1,86	2,0	1,68
18:1 ω -9 (oleico)	71,67	76,5	78,40
18:2 ω -6 (linoléico)	3,70	2,1	1,21
18:3 ω -3 (α -linolénico)	0,80	1,0	1,20

Fuente²⁰⁻²²

Tabla N° 2. Determinación de β -caroteno, α -tocoferol por HPLC en el aceite extraído del mesocarpio del fruto de *Mauritia flexuosa* L. f.

Vitaminas	<i>M. flexuosa</i> “shambo”
β -caroteno (μ g/g)	283,57 \pm 0,48
α -tocoferol (mg/g)	677,58 \pm 0,63

Fuente²⁰

2.1.5. Antecedentes del aceite de aguaje

- En una investigación realizada por Gomes et al.²³ comprobaron que el aceite esencial de copaiba obtenido por arrastre de vapor incorporado en un gel al 1% disminuyo la superficie afectada con acné vulgaris en un ensayo clínico

de doble ciego. Este estudio fue llevado a cabo en un policlínico localizado en la municipalidad de Vila Velha, Espírito Santo, Brasil.

- Batista et al.²⁴ concluyeron en su investigación que el aceite tiene actividad antibacteriana frente a bacterias como *E. aerogenes*, *B. subtilis*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*. También demostró ser eficaz en el proceso de cicatrización de heridas en ratas aplicada a través de una crema de aguaje al 10%.
- Zanatta et al.²⁵ en la investigación “Comportamiento reológico, potencial zeta y ensayos de estabilidad acelerada del aceite de Buriti (*Mauritia flexuosa*) conteniendo emulsiones con cristales líquidos liotrópicos” concluye que el aceite de aguaje posee excelente potencial para ser usado como ingrediente dermocosmético.
- Durães et al.²⁶ estudiaron este aceite por su composición química (alta concentración de ácido oleico, tocoferoles y carotenoides, especialmente β -caroteno) y sus interesantes propiedades ópticas semejantes como absorción y fotoluminiscencia. La incorporación del aceite vegetal de *Mauritia flexuosa* L. en el poliestireno y polimetacrilato devuelve la mezcla de las matrices de color naranja, los cuales fueron verificados mediante absorción en UV-Vis, radiación y emisión de luz en la región verde. Llegando a la conclusión que la intensidad de esta propiedad es proporcional al contenido de aceite en la muestra.
- Zanatta et al.⁵ realizaron un trabajo de investigación intitolada “Potencial fotoprotector de emulsiones formuladas con aceite de Buriti (*Mauritia flexuosa*) y vitamina E contra la radiación UV en queratinocitos y fibroblastos de líneas celulares” donde concluyeron que las emulsiones de Buriti pueden ser consideradas como un potencial vehículo de transporte de precursores antioxidantes y también ser usado como fotoprotector.

2.2. *Copaifera reticulata* var. *peruviana*

2.2.1. Clasificación taxonómica

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Copaifera*

Especie: ***Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer**

Sinónimo: *Copaifera reticulata* var. *peruviana* J.F. Macbr.

Nombre vulgar: «copaiba»

Fuente¹³

2.2.2. Descripción morfológica

Es un árbol de 20 a 30 m de altura, de tronco recto, con copa globosa y amplia, corteza rugosa, sus flores son blancas, pequeñas, bisexuales y olorosas, su fruto es dehiscente en dos valvas de color marrón; las semillas son ovoides y pequeñas, de color negro, se encuentran de 1 a 2 envueltas en un arilo de color amarillo²⁷.

2.2.3. Ubicación geográfica

Este árbol es originario de Sudamérica pero también se encuentra en Puerto Rico y Hawaii, es propio de climas tropicales húmedos y secos²⁸.



Figura 2. Regiones donde el género *Copaifera* es encontrado²⁸

2.2.4. Oleorresina de copaiba

La extracción de la oleorresina se practica de manera rudimentaria, haciendo un orificio en el tronco, de preferencia en árboles de mayor edad. La designación correcta para este exudado constituido por ácidos resinosos y compuestos volátiles es oleorresina de copaiba, denominado erróneamente bálsamo de copaiba, ya que no contiene derivados de ácido benzoico o cinámico. De la oleorresina se obtiene el aceite esencial por destilación por arrastre de vapor^{28, 29}. Según Lawrence³⁰, las especies botánicas más frecuentes utilizadas en la producción de a oleorresina son: *C. reticulata* (70%), *C. guianensis* (10%), *C. multijuga* (5%) y *C. officinalis* (5%).

2.2.5. Composición química de la oleorresina

El análisis cromatográfico de la oleorresina de copaiba ha revelado que está compuesta de sesquiterpenos y diterpenos.

Las estructuras más comunes detectadas de diterpenos son el caurano, labdano, clerodano, ácido copalico, ácido caurenoico y ácido de hardwick y entre los sesquiterpenos tenemos al cariofileno, copaeno, bisaboleno y bergamoteno²⁸.

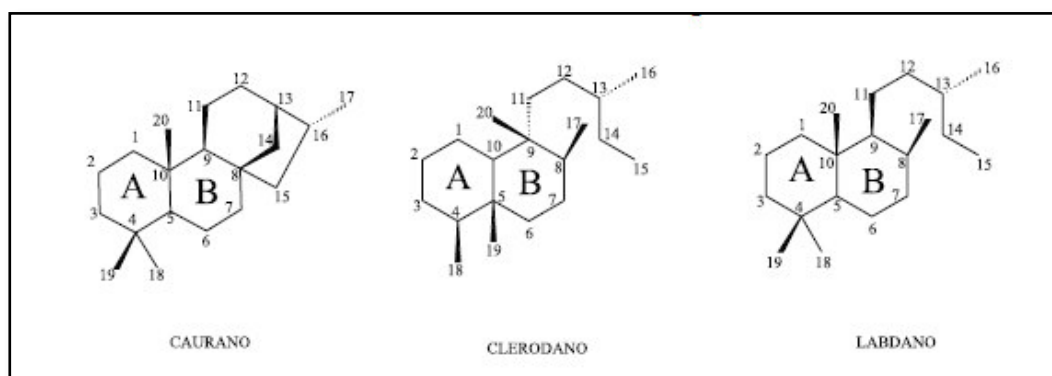


Figura 3. Estructuras diterpénicas: caurano, clerodano y labdano. Sistema decacíclico representado por los anillos A y B. ²⁸

El ácido copalico es considerado un diterpeno característico del género *Copaifera*. Los cariofilenos han sido reportados como la principal sustancia en la *Copaifera multijuga* Hayne y *Copaifera reticulata* Ducke. Algunos compuestos que se encuentran en los aceites de copaiba presentan aromas, siendo utilizados por la industria de perfumes, como el α -humuleno, cariofileno, α y β selineno y bisaboleno³¹.

2.2.6. Antecedentes de la oleorresina de copaiba

- La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) organismo de regulación de drogas y alimentos del gobierno de EE.UU., aprobó el aceite de copaiba en 1972³².
- Basile et al.⁸ estudiaron la actividad anti-inflamatoria en ratas utilizando diversos modelos, como la inhibición del edema inducido por carragenina, la inhibición de la formación de granulomas "*Cotton-pellet*" y el aumento de la permeabilidad vascular. Sus resultados indican que el aceite tiene actividad antiinflamatoria y baja toxicidad (LD₅₀ 3,79 mL/Kg). Aunque efectos adversos a altas dosis de aceite (irritación gastrointestinal, diarrea, babeo y depresión del sistema nervioso central), su uso se justifica plenamente en la medicina popular.
- Fernandes et al.³³ evaluaron el efecto antiinflamatorio y analgésico de la oleorresina *Copaifera cearensis*, comparándolo con la indometacina y otros derivados aislados a partir de la oleorresina como ácido copalico, ácido solidago y bisabolol. Los resultados mostraron que la oleorresina de copaiba posee actividad antiinflamatoria y analgésica más altos que los tres compuestos estudiados de forma aislada, pero menor que la indometacina.
- Brito et al.⁹ compararon los aspectos microscópicos de la cicatrización de heridas cutáneas abiertas en ratas tratadas con la oleorresina de copaiba y un grupo control, evidenciando en los animales tratados un incremento en la formación de costra en la lesión, tejido de granulación y número de vasos sanguíneos.
- Paiva et al.¹⁰ comprobó que la aplicación tópica de oleorresina de *C. langsdorffii* aceleró la retracción de las heridas señalando el efecto beneficioso de la oleorresina en la cicatrización de las heridas en ratas.
- Estevão et al.¹¹ encontraron que la pomada con oleorresina de *Copaifera langsdorffii* a una concentración de 10% favoreció la angiogénesis y aceleró la viabilidad en colgajos de piel en ratas.
- Mendonca D.⁷ evaluó la actividad antimicrobiana de esta oleorresina, que fue evaluada por la técnica de difusión en agar en medio Muller-Hinton. Los resultados mostraron que el aceite de copaiba tiene la capacidad de inhibir

el crecimiento de las tres bacterias evaluadas, presentando así una concentración mínima inhibitoria de 1,56, 3,12 y 12,5% para *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*, respectivamente.

- Santos et al.⁶ evaluaron la actividad antimicrobiana de ocho especies del género copaífera. La especie *C. martii*, *C. officinalis* y *C. reticulata* exhiben buena actividad antibacteriana frente a bacterias gram-positivas, incluyendo MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina). Por el contrario, todos los aceites ensayados fueron inactivos contra las bacterias gram-negativas. La actividad antifúngica de la especie *C. paupera* y *C. lucens*, *C. cearensis*, *C. langsdorffii* y *C. multijuga* resultó ser moderada.

2.3. La piel

Órgano dinámico constantemente cambiante, se compone en tres capas principales: epidermis, dermis y tejido subcutáneo, cada una de las cuales está formada por varias subcapas. Los anejos de la piel, como folículos y glándulas sebáceas y sudoríparas, también desempeñan diversos papeles en su función global³⁴.

Salvat J.³⁵ menciona que la piel posee una gran capacidad de regeneración, es decir, es capaz de repararse a sí misma después de haber sufrido lesiones leves.

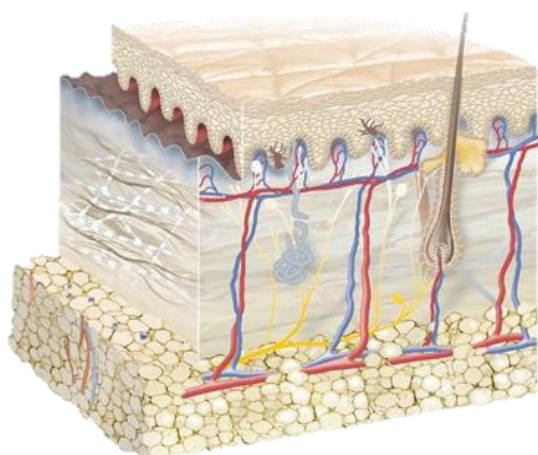


Figura 4. La piel comprende tres capas: epidermis, dermis y tejido subcutáneo³⁴

2.3.1. Epidermis

La epidermis se compone de 4 o 5 capas, dependiendo de la región de la piel. Las dos capas principales son el estrato basal o germinativo y el estrato córneo, la capa

más externa es el estrato córneo la cual tiene contacto directo con el medio ambiente, esta capa no es una simple colección de células muertas, sino un complejo organismo que es parte del sistema homeostático; todos los fenómenos ocurren en esta capa, incluyendo el uso de cosméticos³⁴.

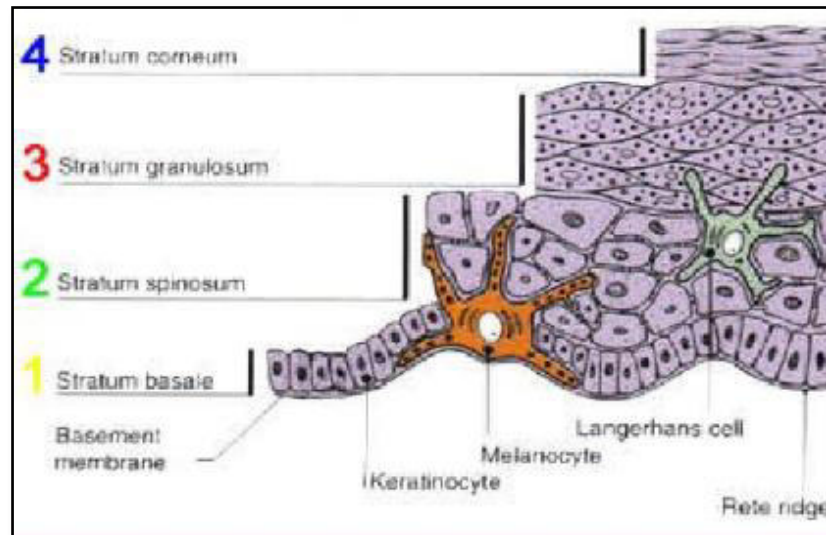


Figura 5. Esquema de las capas de la epidermis³⁵

Cinética celular de la epidermis

El epitelio escamoso estratificado se mantiene gracias a la división continua de las células de la capa basal. Las células se diferencian partiendo de la lámina basal a medida que se desplazan hacia las capas exteriores de la epidermis. Al llegar a la capa córnea pierden el núcleo y se fusionan a las capas escamosas, que se desprenden continuamente de la superficie de la piel por descamación. En una piel normal sana, la cantidad de células nuevas que se producen es igual al de células que se desprenden, llevando dos semanas a una célula el recorrido desde la capa basal a la parte alta de la capa granular, y cuatro semanas adicionales atravesar la capa córnea³⁶.

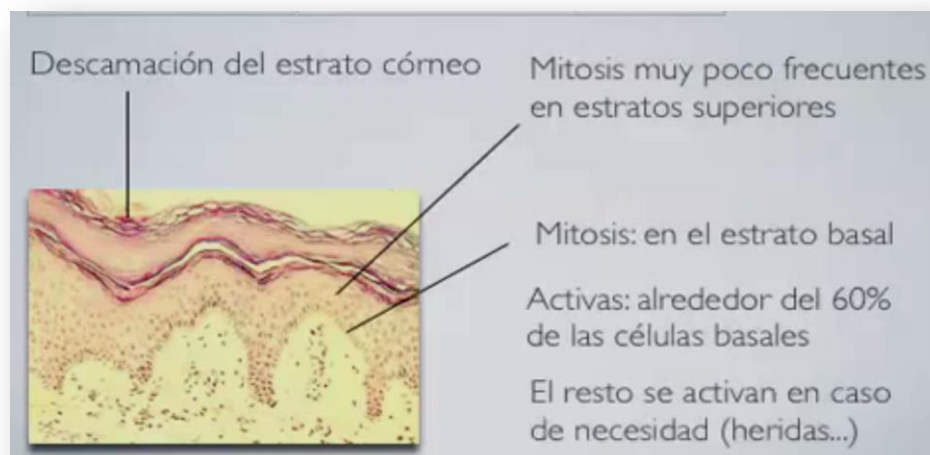


Figura 6. División celular y cinética de la epidermis³⁶

2.4. Cicatrización

La cicatrización comienza muy precozmente en el curso de la inflamación, cuando los macrófagos comienzan a digerir los microorganismos que han sobrevivido al ataque de los neutrófilos y detritus de las células parenquimatosas y neutrófilos muertos. Generalmente 24 horas después de la lesión, comienzan a proliferar los fibroblastos y las células endoteliales, que forman en un período de tres a cinco días, un tejido especializado (tejido de granulación) que es el rasgo fundamental de la curación en la inflamación. El tejido de granulación tiene un aspecto granular blando en la superficie de las heridas, siendo su característica histopatológica fundamental, la proliferación de pequeños vasos de neoformaciones y fibroblastos. Finalmente este tejido da lugar a una cicatriz formada por fibroblastos fusiformes, colágeno denso, fragmentos de tejido elástico, matriz extracelular y vasos relativamente escasos³⁷.

2.4.1. Fases de la cicatrización

En la fase inflamatoria, ocurre un proceso de coagulación que detiene la pérdida de sangre (hemostasia), además se liberan varios factores para atraer células que fagociten; residuos, bacterias, tejido dañado y liberen factores que inicien la fase proliferativa de cicatrización de la herida³⁸.

La fase proliferativa se caracteriza por la angiogénesis, el aumento de colágeno, la formación de tejido granular, la epitelización y la contracción de la herida^{39, 40}.

- Angiogénesis, crecen nuevos vasos sanguíneos a partir de células endoteliales.
- Fibroplasia y formación de tejido granular, los fibroblastos crecen y forman una nueva matriz extracelular provisoria mediante la secreción de colágeno y fibronectina.
- Epitelización, las células epiteliales se desplazan sobre la herida cubriéndola.
- Contracción, los miofibroblastos ayudan a reducir el tamaño la herida; ellos se adhieren de los bordes de la herida y se contraen utilizando un mecanismo similar al que tienen las células de los músculos lisos.

Tabla N° 3. Indicadores considerados en la fase de regeneración epitelial³⁸

Regeneración epitelial	
Fase I	Fase II
Proliferación del estrato de Malpighi. Queratinización y descamación excesiva del estrato córneo. Crecimiento epidérmico de los bordes de la herida.	Captación de los bordes de la herida. Epitelización epidérmica

2.5. Cremas dermocosméticas

Son preparados que al aplicar en la piel con fines de embellecimiento ejercen una acción determinante en cuánto a provocar un cambio en esta, es decir es un cosmético que posee ingredientes activos que ayudan a la piel a mantenerla y protegerla². Esto hace posible incorporar en estos productos para el cuidado de la piel un número ilimitado de sustancias activas a partir de fuentes naturales (extractos de plantas o algas, aceites, oleorresinas).

Como ejemplo de productos dermocosméticos podemos citar los preparados a base de elementos hidratantes y ácidos grasos esenciales que coadyuvan en el tratamiento de las pieles atópicas, la aplicación de las vitaminas A, E y C que retardan el envejecimiento cutáneo. Por todo ello, el formulador debe conocer adecuadamente las sustancias que se incorporan a las fórmulas, las posibles interacciones, su eficacia y tolerancia, así como también tomar en cuenta ciertos factores, tales como: el sinergismo entre los componentes, estabilidad, características reológicas y sensoriales del vehículo, facilidad de uso y costos del producto⁴¹.

2.5.1. Cremas cosméticas a base de productos naturales

- Cremas dermocosmética a base de cera de abeja y aceite de ajonjolí, se probaron varias concentraciones de cera de abeja resultando la crema al 35% de cera de abejas la que tiene buen aspecto, olor a miel, buen esparcimiento y mayor aceptación por el público⁴².
- Crema elaborada con extractos acuosos de tomate de riñon y arazá que tuvo como objetivo comprobar la eficacia cosmética “humectante” utilizando un moderno equipo de bioingeniería cutánea, el corneómetro, con el que se evaluó la capacitancia cutánea⁴³.
- Crema de aloe al 25% con eficacia antiinflamatoria sobre la mucosa afectada por estomatitis subprotésica grado II en pacientes portadores de prótesis⁴⁴.
- Crema facial a base de enjundia de gallina para el tratamiento de las arrugas, se realizó una evaluación clínica⁴⁵.

2.6. Estabilidad de las cremas

Es fundamental mantener la estabilidad de las cremas dermocosméticas para un adecuado uso y aplicación. Además, el formulador debe conocer y distinguir los términos de inestabilidad como floculación, a veces llamada coagulación, descomposición o desnatado⁴⁶.

Cuando se descomponen las cremas, las pequeñas gotitas iniciales de la emulsión se unen de forma espontánea para formar gotas más grandes que al final producen dos capas líquidas separadas; a este proceso se le conoce como coalescencia⁴⁶.

La floculación es la adhesión mutua de las gotitas para formar una red tridimensional sin coalescencia. El “cremado” o desnatado es la separación de las gotitas dispersadas de la emulsión por acción de la gravedad. La mejor manera para evitar el cremado consiste en agregar agentes espesantes para inhibir el movimiento de las gotitas de la emulsión; pero la mejor forma para mantener estable una crema empieza con la elección de un adecuado agente emulsificante para la formulación⁴⁶.

2.6.1. pH de las cremas

El pH del producto tópico tiene que acercarse al pH de la piel que se encuentra entre 4 a 6,5. Cuando éste se encuentra fuera del rango, puede provocar alteraciones no favorables a la piel, es por ello, que el ajuste de pH a este intervalo es de suma importancia al momento de formular las emulsiones³⁵.

2.7. Estabilidad Cosmética¹²

Explica la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasilia (2004) en la guía de estabilidad de productos cosméticos, que la estabilidad de un cosmético proporciona indicaciones sobre el comportamiento del producto, en un determinado intervalo de tiempo y frente a condiciones ambientales a las que pueda estar sujeto, desde la fabricación hasta su expiración.

Esta estabilidad es relativa, pues varía con el tiempo y en función de factores que aceleran o retardan alteraciones en los parámetros del producto.

Modificaciones dentro de límites determinados pueden variar y el producto puede ser reprobado o rechazado.

El estudio de la estabilidad de productos cosméticos contribuye a orientar el desarrollo de la formulación y del material de acondicionamiento adecuado, estimar el plazo de validez y evaluar el monitoreo de la estabilidad organoléptica, fisicoquímica y microbiológica, produciendo informaciones sobre la confiabilidad y seguridad de los productos.

2.8. Estabilidad Acelerada¹²

Es conocida también como estabilidad normal o exploratoria. Esta prueba es empleada también en la fase de desarrollo del producto utilizando lotes producidos a escala de laboratorio y pilotos de fabricación.

Antes de iniciar los estudios de estabilidad, se recomienda someter al producto a la prueba de centrifugación. Se sugiere centrifugar una muestra a 3 000 rpm durante 30 minutos. El producto debe permanecer estable y cualquier señal de inestabilidad indica la necesidad de reformulación. Si es aprobado en este ensayo, el producto puede ser sometido a las pruebas de estabilidad.

Generalmente esta prueba tiene una duración de noventa días. Las muestras pueden ser sometidas a calentamiento en estufas, enfriamiento en refrigeradores, exposición a radiaciones luminosas y expuestas a temperatura ambiente.

Tabla Nº 4. Condiciones de temperaturas a las que pueden ser expuestas las muestras en el estudio de estabilidad acelerada

TEMPERATURAS ELEVADAS		TEMPERATURAS BAJAS	
Equipo	Temperatura	Equipo	Temperatura
Estufa	$37 \pm 2^{\circ} \text{C}$	Nevera	$5 \pm 2^{\circ} \text{C}$
Estufa	$40 \pm 2^{\circ} \text{C}$	Congelador	$-5 \pm 2^{\circ} \text{C}$
Estufa	$45 \pm 2^{\circ} \text{C}$	Congelador	$-10 \pm 2^{\circ} \text{C}$
Estufa	$50 \pm 2^{\circ} \text{C}$		

Los productos deben ser almacenados en más de una condición de temperatura, para que se pueda evaluar su comportamiento en los diversos ambientes a los que pueda ser sometido.

La periodicidad de la evaluación de las muestras puede variar conforme la experiencia técnica, especificaciones del producto, características especiales de algún componente de la formulación o sistema conservante utilizado, sin embargo lo más usual en este estudio acelerado es que sean evaluadas inicialmente en

tiempo cero, 24 horas y a los 7, 15, 30, 60 y 90 días. Si el estudio se prolonga por más tiempo, se recomiendan evaluaciones mensuales hasta su término.

Parámetros¹²

Los parámetros a seguir según la Guía de estabilidad de productos cosméticos (2004), deben ser definidos por el formulador, dependen de las características de la formulación en estudio y de los componentes utilizados en esta formulación.

Características organolépticas: Permiten evaluar inmediatamente el estado en que se encuentra la muestra por medio de análisis comparativos. Se realiza con el objetivo de verificar alteraciones como separación de fases. Se debe utilizar una muestra de referencia, (muestra almacenada a temperatura ambiente) para evitar modificaciones en las propiedades organolépticas. Se evalúa aspecto, color y olor.

Características fisicoquímicas: Permiten al formulador detectar futuros problemas que pueden afectar la estabilidad y la calidad del producto. Se evalúa el pH y la viscosidad.

Características microbiológicas: El producto debe someterse a las pruebas microbiológicas para garantizar su inocuidad. Se debe tomar una muestra de referencia, también denominada patrón, que en general puede ser mantenida en nevera o a temperatura ambiente, al abrigo de la luz.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Tipo de investigación

Experimental, analítica, prospectiva y longitudinal.

3.1.2. Materiales, reactivos y equipos

a. Reactivos y materias primas

- Solución de Wijs Merck.
- Tetracloruro de carbono Merck
- Solución al 15 % de yoduro de potasio
- Solución 0,1 N de tiosulfato de sodio
- Solución indicadora de almidón
- Solución 0,5 N de hidróxido de sodio
- Solución indicadora de fenolftaleína
- Solución etanólica de hidróxido de potasio
- Solución de ácido acético y cloroformo
- Formaldehído al 10%
- Cera lanette SX
- Alcohol cetílico
- Propilenglicol
- Sorbato de potasio
- Butil hidroxitolueno (BHT)
- Silicona
- Crema reparadora Cicalfate
- Crema depilatoria corporal (crema VEET®)
- Alcohol al 70%
- Tween 80
- Agua de peptona pH 7
- Agar tripticasa de soya (TSA)
- Agar Saboraud
- Caldo lactosado
- Agar Mc Conkey
- Caldo de hidrolizado de caseína de soja (TSB)

- Agar Cetrimide
- Agar Baird Parker

b. Equipos

- Baño termostático Memmert WNB 14
- Balanza analítica Pioneer PA224 "OHAUS"
- Estufa esterilizadora UN450 "Mettmert"
- Refractómetro Abbe
- Potenciómetro marca Mettler Toledo
- Viscosímetro Digital Marca Brookfield Modelo LVDVE
- Dinamómetro (equipo de tensión con arena)
- Equipo de disección
- Autoclave eléctrica Marca All American Modelo 25X-240
- Incubadora modelo INE 400 Memmert

3.1.3. Materiales biológicos

Animales de laboratorio

Ratones albinos machos de la especie *Mus musculus*, cepa Balb c, de 2 meses de edad y 33 ± 2.7 g de peso, procedente del Instituto Nacional de Salud – Centro Nacional de Productos Biológicos – Chorrillos.

Colecta de las especies vegetales

Los frutos de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje” fueron recolectados en la Reserva de Pacaya-Samiria (Comunidad 20 de Enero) ubicada en el departamento de Loreto clasificados como frutos shambo e identificados taxonómicamente por un biólogo-taxónomo; el aceite de aguaje fue extraído de la pulpa del fruto por prensado en frío, la cual fue proporcionada por el biólogo.

También se trabajó con la oleorresina *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba” obtenida de Puerto Inca en el departamento de Huánuco, que se obtuvo directamente de los árboles haciendo un orificio al tronco, esta muestra fue recolectada e identificada taxonómicamente por un biólogo-taxónomo.

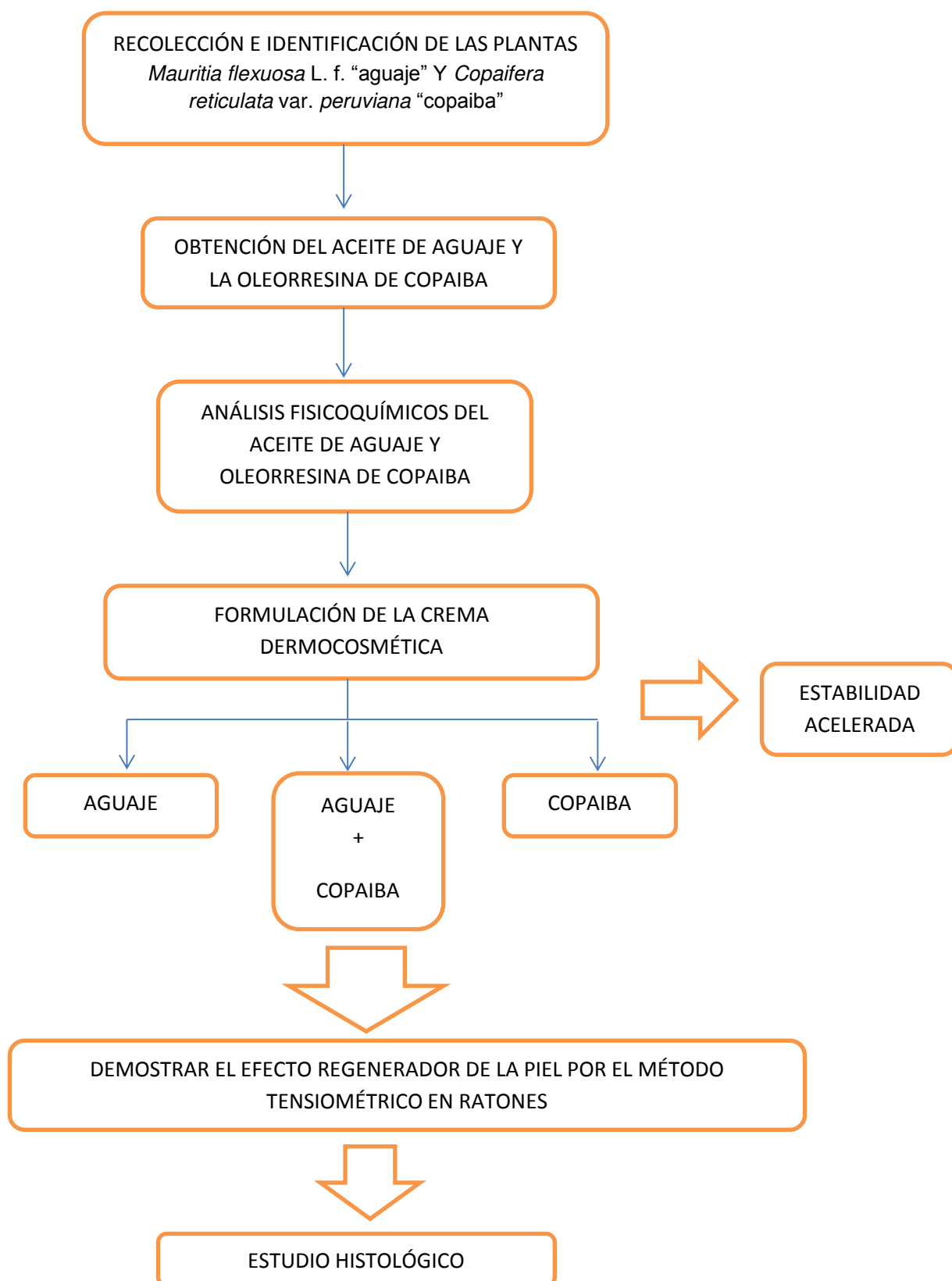


Figura 7. Diagrama de flujo del trabajo experimental.

3.2. Características fisicoquímicas del aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba

Las siguientes propiedades fisicoquímicas del aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba fueron determinadas: índice de acidez, índice de peróxido, índice de saponificación, índice de yodo, índice de refracción, densidad relativa según los métodos descritos por la norma técnica ecuatoriana⁴⁷.

3.3. Formulación de la crema dermocosmética O/W

Cuatro formulaciones fueron hechas:

a) Base de la crema

Contiene cera lanette SX, alcohol cetílico, propilenglicol, sorbato de potasio, butil hidroxitolueno (BHT), silicona, agua csp para 100g.

b) Base de la crema + aceite de aguaje al 8%

c) Base de la crema + oleorresina de copaiba al 10%

d) Base de la crema + aceite de aguaje + oleorresina de copaiba

Emulsión O/W

Aceite de aguaje	8 g
Oleorresina de copaiba	10 g
Excipientes csp	100 g

Posteriormente las cremas formuladas fueron sometidas a un estudio de estabilidad acelerado según la Guía de Estabilidad de Productos cosméticos¹².



Figura 8. Cremas dermocosméticas formuladas a base de aceite de aguaje, oleorresina de copaiba y una mezcla de ambas en envases de polietileno de alta densidad



Figura 9. Crema dermocosmética a base de aguaje y copaiba envasadas en tubos colapsibles de aluminio (envase final para su comercialización)

3.3.1. Estudio de Estabilidad Acelerada de las cremas dermocosméticas

Metodología según en la guía de estabilidad de productos cosméticos¹²

Las cremas elaboradas se sometieron a la prueba de centrifugación a 3 000 rpm durante 30 minutos para verificar la estabilidad de la formulación y se almacenaron en frascos de polietileno de alta densidad con tapa que garantice un buen cierre evitando pérdida de gases o vapor por el medio. Se utilizó, paralelamente el material de acondicionamiento final (tubos colapsibles de aluminio); anticipándose de esta manera, la evaluación de la compatibilidad entre la formulación y el embalaje. Las muestras fueron sometidas a condiciones extremas de almacenamiento con el fin de aumentar la tasa de degradación química o física del producto.

Tabla N° 5. Condiciones de temperatura que fueron sometidas las muestras y período de cada evaluación para el análisis de estabilidad acelerada

Temperatura	Equipo	Período de evaluación	Duración del estudio
Elevada 40 °C	Estufa	24 horas, 30 días, 60 días, 90 días y 120 días.	120 días
Baja 5 °C	Nevera		

Tabla N° 6. Parámetros evaluados en el estudio de estabilidad acelerada

ENSAYO	PARÁMETRO
Organoléptico	Color
	Olor
	Aspecto (Homogéneo o Heterogéneo)
Fisicoquímico	pH
	Viscosidad
Microbiológico	Determinación de la carga bacteriana

a) Metodología de evaluación de características organolépticas¹²

Se evaluó el aspecto, color y olor de cada muestra mediante evaluación sensorial, visual y olfativa en los tiempos indicados en la tabla N° 5. Cada una de estas características fueron comparadas con la muestra patrón de las formulaciones (muestras almacenadas a temperatura ambiente evitando el contacto con la luz solar).

b) Metodología para la determinación de pH⁴⁸

Se utilizó el método <2.2.3> Determinación potenciométrica del pH empleado por la Farmacopea Española, 2da Edición, 2002.

Primero se calibró el equipo por medio de soluciones buffers (pH 4,00 y pH 7,00). Una vez calibrado, se realizó la medición del pH de cada muestra, se sumergió el electrodo en 10 g de crema durante 1 minuto.

c) Metodología para la determinación de la viscosidad⁴⁹

La viscosidad se determinó utilizando el viscosímetro Brookfield, modelo LVDVE. Se midió la viscosidad con el spin N°6 a una velocidad de 50 rpm.

d) Metodología para el control microbiológico⁴⁸

Se realizó el análisis de control microbiológico de las muestras por el método de recuento en placa y nos regimos a métodos <2.6.12> Control de la Contaminación Microbiana en Productos no Obligatoriamente Estériles (Recuento de microorganismos aerobios viables totales) y <2.6.13.> Control de la contaminación

microbiana en productos no obligatoriamente estériles (ensayos para microorganismos específicos) según la Farmacopea Española, 4^{ta} Edición, 2002.

Homogenizar 10 g o 10 mL del producto a examinar con no más de la mitad de su peso de polisorbato 80 estéril o cualquier otro agente tensoactivo apropiado, calentados en caso necesario a una temperatura que no exceda los 40 °C y en casos excepcionales calentar hasta una temperatura de 45 °C. Mezclar cuidadosamente y si fuera necesario mantener la temperatura en un baño de agua o en una incubadora. Anadir una cantidad suficiente de disolución de peptona-cloruro de sodio tamponada a pH 7,0 previamente calentada para obtener una dilución decimal del producto original. Mezclar cuidadosamente mientras se mantiene la temperatura durante el mínimo tiempo necesario para la formación de una emulsión, sin exceder en ningún caso los 30 min. Se pueden preparar otra serie de diluciones decimales utilizando una disolución de peptona-cloruro tamponada a pH 7,0 que contenga una concentración adecuada de polisorbato 80 estéril u otro agente tensoactivo estéril.

Tabla Nº 7. Resumen de la evaluación microbiológica

Caldo	Agar	Patógeno	Características de las colonias
Caldo Mc Conkey o lactosado	Agar Mc Conkey	<i>Escherichia Coli</i>	El crecimiento de colonias rojas, generalmente no mucoides, de bacilos gram-negativos, indica la posible presencia de <i>E. coli</i> .
TSB	Agar con cetrimide	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	La sustancia a examinar satisface el ensayo si no se detecta crecimiento de microorganismos.
TSB	Agar Baird-Parker	<i>Staphylococcus aureus</i>	La aparición de colonias negras de cocos gram-positivos, a menudo rodeadas de una zona transparente, constituye un indicio de la presencia de <i>S. aureus</i> .

Incubar a 35-37 °C durante 18-72 h

Fuente⁵⁰

Los resultados del análisis microbiológico se compararon con los límites de aceptabilidad permitidos por la Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 2867 Productos cosméticos requisitos (Tabla N° 8) y los límites que propone la Farmacopea Española, 2da Edición, 2002 para productos No obligatoriamente estériles (Tabla N° 9)

Tabla N° 8. Requisitos microbiológicos de los productos cosméticos según Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 2867

ÁREA DE APLICACIÓN Y USO	REQUISITO	LÍMITES DE ACEPTABILIDAD
Productos cosméticos susceptibles a contaminación microbiológica	Microorganismos mesófilos aerobios totales	Límite máximo 5×10^3 ufc*/g ó mL
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia de en 1 g ó mL.
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia se en 1 g ó mL.
	<i>Escherichia coli</i>	Ausencia de en 1 g ó mL.

*ufc = unidades formadoras de colonias

Fuente⁵¹

Tabla N° 9. Límite máximo aceptable para Productos No Obligatoriamente Estériles propuestos por la Farmacopea Española, 4^{ta} Edición, 2002

PRODUCTO	LÍMITE DE ACEPTABILIDAD
Productos no obligatoriamente estériles	Recuento de hongos y levaduras no más de 5×10^2 ufc/g o mL

Fuente⁵⁰

3.4. Test de sensibilidad e irritación⁵²

La crema dermocosmética de aguaje, copaiba y aguaje + copaiba, se sometieron a prueba de tolerancia en voluntarios humanos, con consentimiento informado.

Para esto se seleccionaron 6 personas divididas en 3 grupos de 2 personas por grupo. Al primer grupo se le aplicó la crema de aguaje, al segundo se le aplicó la crema de copaiba y al tercero la crema de aguaje + copaiba. Extendidas las muestras sobre un área de la piel del antebrazo, se cubrió la zona con una lámina

de polietileno transparente y se dejó por 24 horas para observar fenómenos de sensibilidad e irritación de la piel.

3.5. Actividad cicatrizante de las cremas dermocosméticas

Se realizó mediante el método tensiométrico según el modelo de Vaisberg y et al.⁵³ Cuarenta y cinco ratones albinos machos de la especie *Mus musculus*, cepa Balb c, de 2 meses de edad y 33 ± 2.7 g de peso, provenientes del bioterio del Centro Nacional de Producción de Biológicos, fueron distribuidos al azar en 6 grupos de 6 cada uno. Se mantuvieron en observación por 48 horas, verificándose la condición óptima de los ratones para el estudio. Luego se les depiló el tercio inferior del lomo con una crema depilatoria corporal (crema VEET®). Después de 24 horas, al no observarse irritaciones en la piel, se realizaron incisiones de 1 cm de longitud en el tercio inferior del lomo, paralelo a la columna lumbar. Posteriormente se administraron los tratamientos dos veces al día por 72 horas, reservando al grupo control que no recibió tratamiento.

Los grupos experimentales fueron distribuidos de la siguiente manera:

- Seis ratones como grupo control con lesión y sin tratamiento.
- Seis ratones como grupo de aplicación de la base de la crema.
- Seis ratones como grupo patrón, al que se le aplicó la crema comercial Cicalfate.
- Seis ratones a los cuales se le aplicó la crema de aguaje.
- Seis ratones a los cuales se le aplicó la crema de copaiba.
- Seis ratones a los cuales se le aplicó la crema a base de aguaje y copaiba.

Se mantuvo la misma alimentación, ventilación y temperatura en todos los grupos. Después de 72 horas se sacrificaron los animales con una sobredosis de pentobarbital sódico por vía intraperitoneal; luego se procedió a medir la fuerza o tensión en gramos que abriera la herida cicatrizada utilizando un dinamómetro, al hacer la comparación de la actividad cicatrizante se empleó como indicador la fuerza de tensión expresada en gramos necesaria para abrir la lesión cicatrizada.

Inmediatamente se realizaron los cortes longitudinales de la piel regenerada, que incluyó parte de la piel sana tomada como referencia para las observaciones histológicas. Dichos fragmentos fueron fijados en formol neutro al 10 % y procesados posteriormente para su evaluación histológica.

IV. RESULTADOS

4.1. Características organolépticas y fisicoquímicas del aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba

Tabla N° 10. Características organolépticas y fisicoquímicas del aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba

Características organolépticas	Aceite de aguaje	Oleorresina de copaiba
Aspecto	Líquido oleoso, libre de partículas extrañas	Líquido oleoso, viscoso y libre de partículas extrañas
Color	Rojo-anaranjado	Amarillo dorado
Sabor	Insípido	Ligeramente ácido
Olor	<i>Sui generis</i>	<i>Sui generis</i>
Análisis fisicoquímicos	Aceite de aguaje	Oleorresina de copaiba
Índice de acidez (% ácido oleico)	3,50	31,19
Índice de peróxido (meq O ₂ /Kg)	0,54	0,20
Índice de saponificación (mg/g)	251,38	188,84
Índice de yodo (Wijs) cg/g	67,61	98,45
Índice de refracción a 25 °C	1,468	1,487
pH (25°C)	5,22	4,28
Densidad a 25 °C (g/mL)	0,9096	0,9383

4.2. Evaluación de las características de las cremas dermocosméticas a una temperatura de 40 °C ± 2 °C

Se almacenó la muestra patrón a temperatura ambiente evitando el contacto con la luz solar. Luego se procedió a hacerle los correspondientes análisis en los respectivos tiempos.

Tabla Nº 11. Evaluación de las características de la crema dermocosmética de aceite de aguaje a una temperatura de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS				
		24 horas	30días	60días	90días	120días
ASPECTO	Homogéneo (Ausencia de grumos)	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
COLOR	Amarillo claro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
OLOR	<i>Sui generis</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
VISCOSIDAD (aguja N°6 / 50 rpm)	13 380 cps	13 380	13 250	13 100	13 060	13 000
pH	5-7	6,1	6,3	6,3	6,4	6,4
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO						
RECuento AEROBIOS MESÓFILOS	Límite máximo 5×10^3 ufc/g	2×10^2	2×10^2	3×10^2	4×10^2	4×10^2
RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS	Límite máximo 5×10^2 ufc/g	1×10^2	1×10^2	1×10^2	1×10^2	1×10^2
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Tabla N°12. Evaluación de las características de la crema dermocosmética de oleorresina de copaiba a una temperatura de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS				
		24 horas	30días	60días	90días	120días
ASPECTO	Homogéneo (Ausencia de grumos)	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
COLOR	Blanco nacarado	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
OLOR	<i>Sui generis</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
VISCOSIDAD (aguja N°6 / 50 rpm)	10 180 cps	10 180	10 160	10 150	10 140	10 140
pH	5-7	6,1	6,3	6,3	6,4	6,4
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO						
RECuento AEROBIOS MESÓFILOS	Límite máximo 5×10^3 ufc/g	1×10^2	1×10^2	1×10^2	1×10^2	1×10^2
RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS	Límite máximo 5×10^2 ufc/g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Tabla N° 13. Evaluación de las características de la crema dermocosmética a base de aceite de aguaje y oleorresina de copaiba
40 °C ± 2 °C

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS				
		24 horas	30días	60días	90días	120días
ASPECTO	Homogéneo (Ausencia de grumos)	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
COLOR	Amarillo claro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
OLOR	<i>Sui generis</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
VISCOSIDAD (aguja N°6 / 50 rpm)	13 200 cps	13 200	13 200	13 200	13 200	13 200
pH	5 – 7	6	6	6	6	6
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO						
RECuento AEROBIOS MESÓFILOS	Límite máximo 5x10 ³ ufc/g	1x10 ²	1x10 ²	2x10 ²	2x10 ²	2x10 ²
RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS	Límite máximo 5x10 ² ufc/g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

4.3. Evaluación de las características de las cremas dermocosméticas a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Tabla N° 14. Evaluación de las características de la crema dermocosmética de aceite de aguaje a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS				
		24 horas	30 días	60 días	90 días	120 días
ASPECTO	Homogéneo (Ausencia de grumos)	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
COLOR	Amarillo claro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
OLOR	<i>Sui generis</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
VISCOSIDAD (aguja N°6 / 50 rpm)	13 380 cps	13 380	13 385	13 387	13 387	13 387
pH	5-7	6,2	6,3	6,3	6,4	6,4
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO						
RECuento AEROBIOS MESÓFILOS	Límite máximo 5×10^3 ufc/g	2×10^2	3×10^3	3×10^2	2×10^2	2×10^2
RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS	Límite máximo 5×10^2 ufc/g	1×10^1	1×10^1	1×10^1	1×10^1	1×10^1
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Tabla N° 15. Evaluación de las características de la crema dermocosmética de oleorresina de copaiba a una temperatura de $5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS				
		24 horas	30 días	60 días	90 días	120 días
ASPECTO	Homogéneo (Ausencia de grumos)	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
COLOR	Blanco nacarado	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
OLOR	<i>Sui generis</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
VISCOSIDAD (aguja N°6 / 50 rpm)	10 180 cps	10 181	10 182	10 184	10 184	10 1184
pH	5-7	6,1	6,3	6,3	6,3	6,4
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO						
RECuento AEROBIOS MESÓFILOS	Límite máximo 5×10^3 ufc/g	1×10^1	1×10^1	1×10^1	1×10^1	1×10^1
RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS	Límite máximo 5×10^2 ufc/g	2×10^2	2×10^1	2×10^1	1×10^1	1×10^1
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

Tabla N° 16. Evaluación de las características de la crema dermocosmética a base de aceite de aguaje y oleoresina de copaiba a una temperatura de 5 °C ± 2 °C

DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS				
		24 horas	30 días	60 días	90 días	120 días
ASPECTO	Homogéneo (Ausencia de grumos)	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
COLOR	Amarillo claro	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
OLOR	<i>Sui generis</i>	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
VISCOSIDAD (aguja N°6 / 50 rpm)	13 200 cps	13 200	13 200	13 200	13 200	13 200
pH	5-7	6,1	6,1	6,1	6,1	6,1
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO						
RECuento AEROBIOS MESOFILOS	Límite máximo 5x10 ³ ufc/g	1x10 ¹	2x10 ¹	2x10 ¹	1x10 ¹	1x10 ¹
RECuento DE HONGOS Y LEVADURAS	Límite máximo 5x10 ² ufc/g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausencia en 1 g	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente

4.4. Resultados del test de sensibilidad e irritación

La observación en voluntarios, nos permitió evidenciar que las cremas de aguaje, copaiba y aguaje + copaiba, no producen reacciones de sensibilidad.

4.5. Resultados de la actividad cicatrizante de las cremas dermocosméticas

Tabla N° 17. Análisis estadístico descriptivo de los datos obtenidos al evaluar el efecto cicatrizante en ratones con inducción de lesión de piel

Tratamiento	Tensión media(g)	Std. Error	% Eficacia cicatrización
Piel intacta	225,67	1,38	100,0
Lesión sin tratamiento	46,50	4,08	14,8
Base de crema	30,67	5,71	14,8
Cicalfate	83,67	7,28	40,5
Copaiba	74,67	6,07	36,1
Aguaje	88,83	6,87	43,0
Copaiba + Aguaje	118,67	8,32	57,4

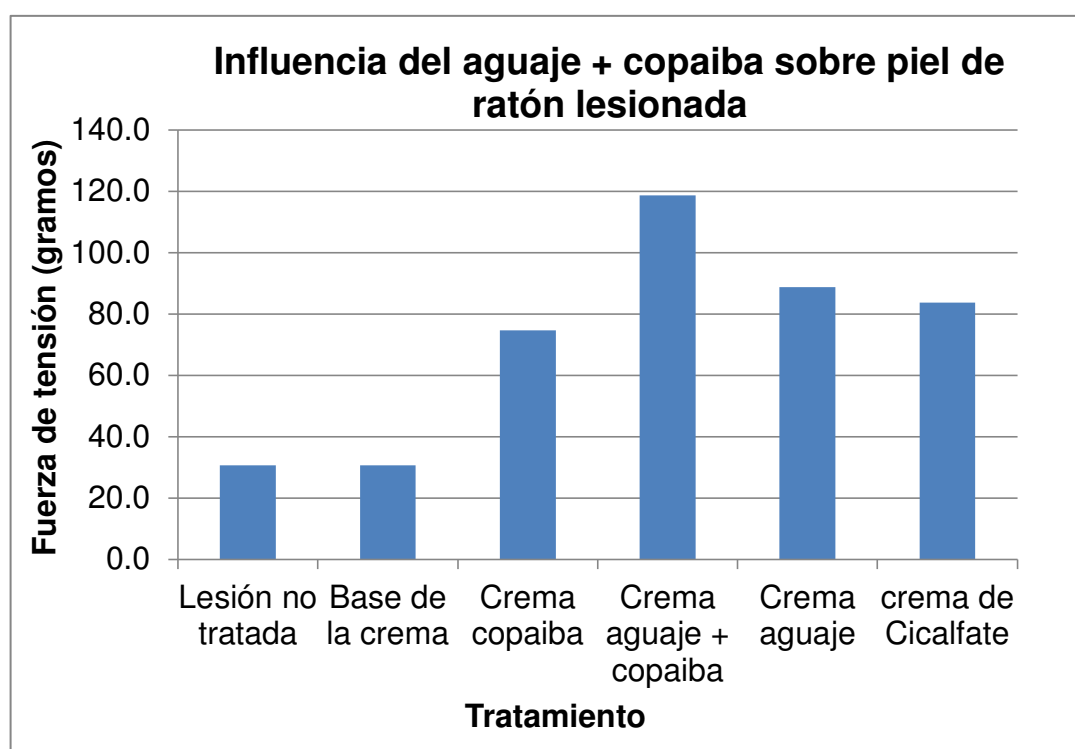


Figura 10. Influencia de las cremas sobre la piel de ratón

Al hacer la comparación de la actividad cicatrizante se empleó como indicador el porcentaje de eficacia de la cicatrización que tiene relación con la fuerza de tensión media en gramos. Estadísticamente hubo diferencia entre los grupos exceptuando el grupo con la lesión no tratada y base de la crema (valor p para ANOVA <0.05).

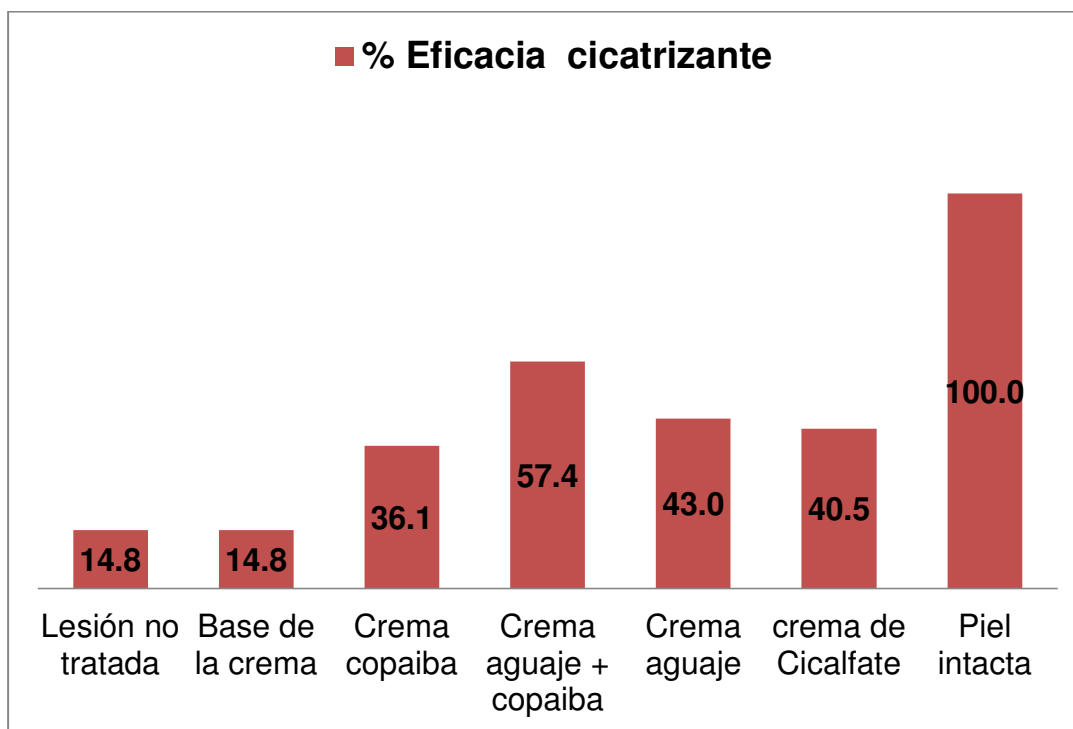


Figura 11. Porcentaje de cicatrización de las cremas dermocosméticas

4.6. Resultados del estudio histológico

➤ **Corte histológico de la piel tratada con la crema a base de aguaje**

Se observa tejido de granulación, infiltración a macrófagos es decir tiene inflamación. (**Figura 12**)

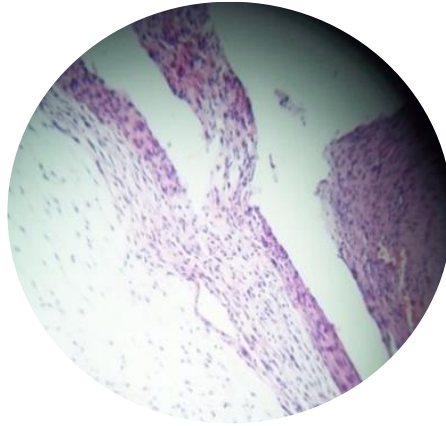


Figura 12. Toma fotográfica del corte histológico de la piel tratada con la crema de aguaje

➤ **Corte histológico de la piel tratada con la base de la crema**

Se observó solución de continuidad que va hasta la capa muscular, ausencia de capa córnea y epidermis. La dermis está separada y en la sub-dermis se aprecia una fuerte reacción inflamatoria constituida por linfocitos y macrófagos. (**Figura 13**)

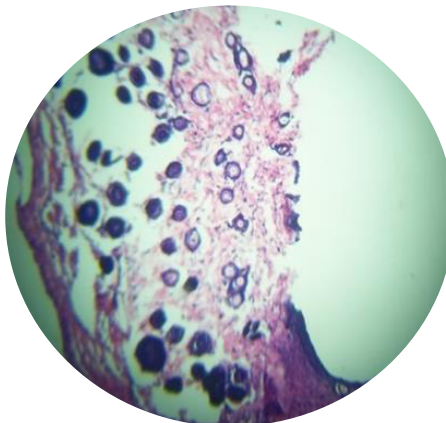


Figura 13. Toma fotográfica del corte histológico de la piel tratada con la base de la crema

➤ **Corte histológico de piel tratada con la crema a base de copaiba**

Se observó reepitelización, tejido conjuntivo laxo como una cicatrización incipiente. (**Figura 14**)

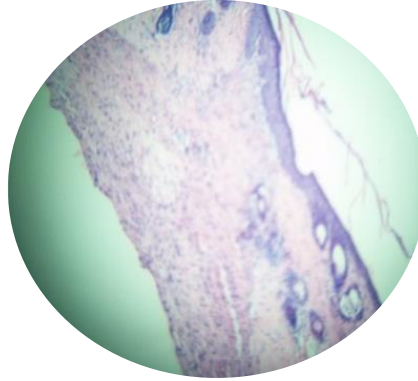


Figura 14. Toma fotográfica del corte histológico de piel tratada con la crema a base de copaiba

➤ **Corte histológico de la lesión sin tratamiento**

Ausencia de capa córnea, tejido epitelial. En la dermis hay haces de colágeno con infiltración de macrófagos 20xcampo. (**Figura 15**)

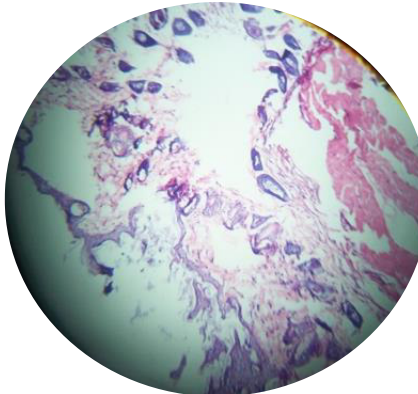


Figura 15. Toma fotográfica del corte histológico de la lesión sin tratamiento

➤ **Corte histológico de la piel tratada con la crema reparadora Cicalfate**

En la dermis se observó colágeno e infiltración linfomonocitaria. Hay tejido de granulación lo que indica que está comenzando a cicatrizar. **(Figura 16)**

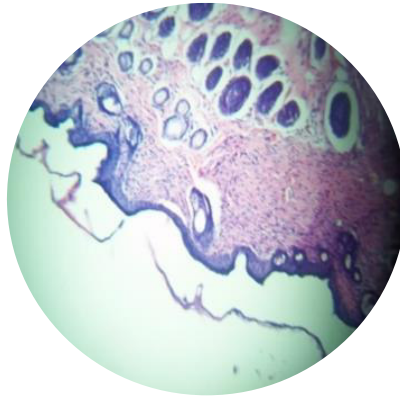


Figura 16. Toma fotográfica del corte histológico de la piel tratada con la crema cicalfate

➤ **Corte histológico de la piel tratada con la crema formulada a base de aceite de aguaje y oleorresina de copaiba.**

Hay tejido de granulación lo que indica que está comenzando a cicatrizar. Epidermis con reepitelización, en la dermis se observó aumento de colágeno e infiltración linfomonocitaria. **(Figura 17)**

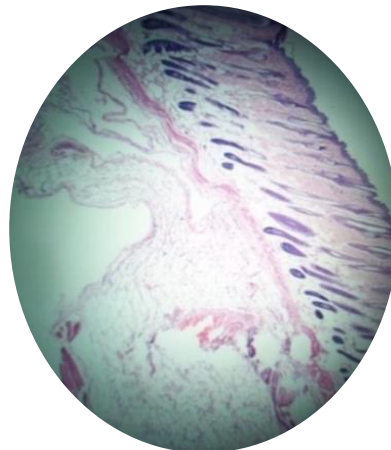


Figura 17. Toma fotográfica del corte histológico de la piel tratada con la crema formulada a base de aceite de aguaje y oleorresina de copaiba

V. DISCUSIÓN

Es importante resaltar que el aceite de aguaje se obtuvo de los frutos maduros clasificados como shambo, ya que esta palmera presenta una diversidad genética principalmente por sus frutos diferentes en color y grosor del mesocarpio. Según el Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú¹⁹ los frutos son clasificados como shambo (pulpa rojiza), ponguete (pulpa amarilla) y carnoso (mesocarpio grueso). Con respecto al aceite obtenido presento un color naranja intenso por su alta concentración de carotenoides, lo cual se demostró en la investigación realizada por Ferreira et al.⁵⁴ donde cuantificaron el contenido total de carotenoides del aceite de aguaje obteniéndose $692,9 \pm 6,8 \mu\text{g/g}$ de aceite.

El índice acidez del aceite de aguaje fue de 3,50 % de ácido oleico cercano al índice 3,54 reportado por Vásquez et al.²⁰ Observamos que el índice de acidez es alto debido a que es un aceite crudo, el cual no ha pasado por un proceso de refinación (decoloración y desodorización) para disminuir la acidez, este procedimiento no es conveniente pues reduciríamos el contenido de carotenoides, clorofila, tocoferol.

El índice de peróxido que presenta el aceite de aguaje fue de 0,54 meq O_2/Kg ; este valor cumple con el requisito de calidad para aceites prensados en frío establecidos por el Codex Alimentarius⁵⁵ el cual acepta hasta 15 meq O_2/Kg . El índice hallado confirma lo estudiado por Vásquez et al.²⁰ donde señalan que este aceite posee resistencia a la oxidación, por su alta concentración de β -caroteno y tocoferoles, los cuales le confieren propiedades antioxidantes, haciendo de este un aceite de calidad superior al aceite de oliva y de palma aceitera. Lawson⁵⁶ menciona que los aceites frescos a menudo tienen valores de peróxidos muy inferiores a 10 meq O_2/Kg .

La determinación de este índice es de gran importancia, pues indicará si el aceite ha sufrido un posible enranciamiento debido a la oxidación, como sabemos los aceites se oxidan al entrar en contacto con el oxígeno del aire. Esto se debe a que los ácidos grasos no saturados (monoinsaturados y poliinsaturados) están provistos de uno o más dobles enlaces, que toman oxígeno y dan origen a la formación de peróxidos, uno de los principales productos de la oxidación. Al reaccionar con otro ácido graso insaturado, estos peróxidos se transforman en

hidroperóxidos que, a su vez, se oxidan y dan lugar a los aldehídos y cetonas, responsables en este caso del olor y sabor rancio de los aceites.

Por otro lado hay un estudio realizado por Sotero y col.⁵⁷ que evaluó la estabilidad de los aceites del género *Attalea* a diferentes temperaturas, tomando como indicador de dicha calidad el índice de peróxido.

La densidad y el índice de refracción para el aceite de aguaje fueron 0,9096 y 1,468, valores semejantes al reportado por Quispe y col.²² que mencionan una densidad de 0,9097 g/mL y un índice de refracción de 1,466.

El índice de yodo en el aceite de aguaje fue de 67,61 g de I₂/100g, el cual se aproxima a 66,6 g de I₂/100g reportado por Quispe et al.²² Otro estudio realizado por Vásquez et al.²⁰, indica un valor de 70,17 g de I₂/100g para el aceite extraído del fruto conocido como shambo. Según el índice de yodo se puede clasificar a este aceite como aceite no secante porque cuando se deja en el aire conserva su consistencia viscosa por tiempo ilimitado.

El índice de saponificación del aguaje fue 251,38 % comparado con la cifra reportada por Quispe y col.²² con 191,83 % y Vásquez et al.²⁰ con 194,8 %.

Los pH determinados para el aceite de aguaje y oleorresina de copaiba fueron 5,22 y 4,28 lo cual permite afirmar que estos aceites son perfectamente compatibles con la piel humana, la cual posee en promedio pH ácido, limitándose la aparición de reacciones inflamatorias y de sensibilización.

Estas características fisicoquímicas del aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. nos permite determinar si el aceite cumple con las especificaciones de calidad También nos ayuda a caracterizar a nuestro aceite para que en el futuro sea usado como un ingrediente activo o un excipiente en la industria cosmética o farmacéutica, como se viene utilizando el aceite de oliva.

El índice de acidez de la oleorresina de copaiba fue de 62,05 mg/g (31,19 % ácido oleico), el índice de saponificación fue de 188,84 mg/g en contraste con lo observado por Silva et al.²⁷ los cuales reportaron un índice de acidez de 48,9 mg/g y un índice de saponificación de 105,23 mg/g. El índice de peróxido fue de 0,20 meq O₂/Kg y el índice de yodo de 98,45 cg/g. El índice de refracción de la oleorresina de copaiba fue de 1,487 comparado con lo reportado por Silva et al.²⁷ que fue 1,51.

Con respecto a las características fisicoquímicas obtenidas de la oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* hay muy pocos estudios hechos, solo se encontraron investigaciones realizadas en Brasil, donde los índices de acidez y de saponificación reportados difieren mucho, esto es debido a las características genéticas, ambientales, la existencia de muchas especies que no son correctamente identificadas, a esto se suma las adulteraciones en su oleorresina y la confusión de que si está trabajando con la oleorresina o el aceite.

Se diseñó cremas formuladas a base de aguaje, copaiba y una mezcla de ambas. Para la formulación de la base de la crema dermocosmética se decidió trabajar con una base autoemulsionable la cera lanette SX, es decir que esta base contiene la fase oleosa y emulgentes mezclados que son capaces de producir emulsiones por sí mismas sin necesidad de incorporar ningún cuerpo graso, estas también ofrecen gran seguridad en cuanto a la estabilidad y excelentes propiedades cosméticas. El uso de la cera lanette SX hizo que nuestra crema sea consistente y quedé impregnada en la piel para lograr su efecto. Según el Handbook of Pharmaceutical Excipients⁵⁸ la cera lanette SX contiene 90 partes de alcohol cetoestearílico y 10 partes de lauril sulfato de sodio. El alcohol cetoestearílico o también llamado lanette O es una mezcla de alcoholes alifáticos sólidos principalmente alcoholes como el estearílico y cetílico en una proporción que varía 50-70% para el alcohol estearílico y 20-35% para el alcohol cetílico. También contiene otras cantidades de alcoholes como el mirístico que conforma el resto.

Referente a los otros excipientes utilizados son materias primas sintéticas con las que se tiene experiencia en su utilización por su estabilidad, compatibilidad con muchos principios activos incluidos los aceites y extractos vegetales, tolerancia de la piel a estas sustancias y por no presentar toxicidad. A esta base se agregó los ingredientes activos: el aceite de aguaje al 8% y la oleorresina de copaiba al 10%.

Se eligió la concentración del aceite de aguaje al 8% dado por la bibliografía investigada, entre los que podemos citar a Batista et al.²⁴ donde comprobaron que la aplicación tópica de la crema a base de aceite de aguaje al 10% posee actividad antibacteriana y cicatrizante en ratas; otro estudio intitulado “potencial fotoprotector de las emulsiones con aceite de aguaje y vitamina E contra la irradiación en queratinocitos humanos y líneas celulares de fibroblastos”⁵ donde se confirmó que las emulsiones formuladas con aceite de aguaje al 5% y 10% fueron capaces de

reducir el daño causado por la radiación UV, en conclusión emulsiones con aceite de aguaje pueden ser usados como adjuvante en las formulaciones de protección solar.

Análogamente se eligió la oleorresina de copaiba a una concentración de 10% por los estudios revisados como por ejemplo Estevão et al.¹¹ concluyeron que la pomada con oleorresina de copaiba al 10% favorece la angiogénesis y acelera la viabilidad en colgajos de piel en ratas.

Fueron varias combinaciones, porcentajes ensayados lo que nos permitió ir modificando nuestra fórmula para obtener una crema que presentó características aceptables en textura y aspecto.

Es importante resaltar que no existe actualmente en la industria cosmética una combinación de estos ingredientes activos como son el aceite de aguaje y la oleorresina de copaiba los cuales fueron especialmente seleccionados que actúan en simultáneo para brindar máxima eficacia y sensorialidad que se manifiesta en un efecto de nueva piel haciéndola lucir más saludable; tanto la oleorresina de copaiba y el aceite de aguaje dan el efecto regenerador en piel lesionada a las concentraciones empleadas, adicionalmente la oleorresina de copaiba actúa como antiinflamatorio, analgésico y antiséptico, el aceite de aguaje proporciona las propiedades dermocosméticas como la humectación de la piel, el efecto fotoprotector y también actúa como antimicrobiano.

Además al combinar el aceite y la oleorresina, esta enmascara el fuerte olor del aceite de aguaje. Tanto la oleorresina como el aceite tienen propiedades antimicrobianas demostradas es por esa razón que se decidió utilizar como conservante el sorbato de potasio que es utilizado en cosmética y alimentos, además este conservante es predominantemente usado como preservativo antifúngico, lo cual es necesario ya que el aceite y la oleorresina no tienen esta propiedad. Este conservante es inocuo, aceptado por la cosmética natural y ecológica.

Correspondiente al estudio de estabilidad acelerada, las cremas se sometieron al ensayo de centrifugación comprobándose que no existió separación de fases; con esta prueba se confirmó que la formulación utilizada era la adecuada para seguir con el estudio de estabilidad acelerada.

Se almacenó las muestras a diferentes condiciones ambientales para analizar el comportamiento de cada una de ellas en un intervalo de tiempo determinado (tabla N°5); las muestras fueron acondicionadas en frascos de polietileno de alta densidad, paralelamente se utilizó el material de acondicionado final los cuáles son tubos colapsibles de aluminio. En el estudio se evaluaron los siguientes parámetros: características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas (tabla N° 6).

La evaluación de las características organolépticas se realizó por medio del análisis sensorial, comparando la muestra patrón (muestra almacenada a temperatura ambiente protegida de la luz) con la muestra analizada. Al evaluar el color de la crema formulada con aceite de aguaje, al inicio presentó un color amarillo claro éste color se manifestó por el color anaranjado rojizo característico del aceite, manteniéndose en durante los 120 días de estudio.

El color característico de las cremas de aguaje se debe a la presencia de compuestos carotenoides que poseen dichos aceites, cabe destacar que la pérdida del color en las cremas se debe a la degradación de estos pigmentos; factores como la temperatura, luz y pH provocan la inestabilidad de los carotenoides, esto se debe a que son compuestos altamente insaturados, degradándose fácilmente debido a procesos oxidativos.

Alvear SJ.⁵⁹ realizó un estudio de estabilidad preliminar en la crema de aguaje expuesta a radiación ultravioleta, la cual cambio a un color blanquecino.

Con respecto a la crema formulada con oleorresina de copaiba y la crema a base de aguaje y copaiba no presentaron alteraciones en su color en el transcurso de los 120 días.

Las cremas dermocosméticas formuladas con el aceite de aguaje tienen un olor fuerte característico a este aceite, mientras que en la crema formulada a base de oleorresina de copaiba y aceite de aguaje se logró enmascarar el olor por la presencia de la oleorresina. Las cremas expuestas a 40 °C y a 5 °C no presentaron cambios de olor en el transcurso del tiempo de evaluación.

El aspecto de las muestras expuestas a 40 °C y a 5 °C en todo el tiempo de evaluación se mantuvo homogénea (ausencia de grumos), no presentaron características de inestabilidad como cremado o coalescencia.

Las propiedades macroscópicas reflejan una correcta interacción entre los componentes, es decir, una elevada compatibilidad entre el aceite y la oleorresina con todos los excipientes de la formulación.

Las cremas cosméticas que fueron expuestas a 40 °C y 5 °C presentaron ligeras variaciones en su pH, lo cual es un pH aceptable para cremas de uso tópico; ya que el pH de la piel varía de 4 a 6,5. Este parámetro es importante para lograr una buena absorción de la crema.

Las cremas formuladas con aceite de aguaje, oleorresina de copaiba y una mezcla de ambas (aguaje +copaiba) fueron expuestas a 40 °C presentando una viscosidad inicial (24 horas) de 13 380, 10 180 y 13 200 cps respectivamente, con unas pequeñas variaciones en el transcurso del tiempo. La fórmula que presentó menor variación en su viscosidad fue la crema a base de aguaje y copaiba, observándose una crema con un aspecto consistente homogéneo.

La viscosidad de las cremas expuestas a 40 °C en comparación con las expuestas a 5 °C presentaron mayor variación en su viscosidad, esto se debe a que los cambios más notorios se observan a temperaturas elevadas.

La viscosidad es inversamente proporcional al aumento de temperatura. Esto concuerda con lo que explica la ley de Newton “A medida que aumenta la temperatura de un líquido, disminuye su viscosidad”.

La variación del pH y viscosidad es un rango que se determinó conforme obtuvimos los resultados en el estudio de estabilidad, esto está relacionado al mantenimiento de las características físicas de la crema, sobre todo el de no romperse la emulsión (coalescencia).

Los ensayos de estabilidad acelerada de las cremas dermocosméticas expuestas a 40 °C y 5 °C analizadas durante 120 días fueron favorables para los tres tipos de formulación, cumpliendo de esta manera las especificaciones mencionadas. (Tabla 11: 16). Referente al análisis microbiológico se determinó que se encuentran dentro de los límites de aceptación microbiológica dados por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2867 requisitos de productos cosméticos y la Farmacopea Española Límites de aceptabilidad para productos no obligatoriamente estériles para el recuento de hongos y levaduras(Tabla N° 8 y 9). Las cremas mostraron ausencia de microorganismos patógenos dado por la eficacia del conservante (sorbato de potasio) que es potenciada por la actividad

bactericida de la oleorresina de copaiba y del aceite de aguaje reportada por Mendonca D⁷, Batista et al.²⁴ respectivamente.

Debido a que nuestro producto es una crema dermocosmética se vio necesario realizar el test de sensibilidad e irritación en humanos⁵², en el cual se comprobó que las cremas dermocosméticas a base de aguaje, copaiba y aguaje + copaiba, no presentan ningún tipo de reacción adversa sobre la piel lo cual confirma el estudio realizado por Zanatta et al.⁶⁰ donde comprobaron que las emulsiones formuladas con aceite de aguaje presentaron baja citotoxicidad en las células, en consecuencia estos no podrían ser irritantes a la piel debido a su baja citotoxicidad. Igualmente Kligman^{61, 62} reporta que la oleorresina de copaiba al 8% en petrolato, en una prueba de parche realizada en 25 personas no produce sensibilidad. También realizó un ensayo de irritación en conejos observándose un resultado favorable.

La crema dermocósmetica a base de *Mauritia flexuosa* L. f. y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* presentó efecto regenerador de la piel lesionada lo cual se comprobó por la evaluación de la actividad cicatrizante y la toma de fragmentos de la piel regenerada para su posterior evaluación histológica. Es importante tener presente que la cicatrización, como lo explica López⁶³, es el resultado de la regeneración de los tejidos y del cierre de una herida.

La actividad cicatrizante de la crema dermocosmética fue expresada como fuerza de tensión expresada en gramos necesaria para abrir la lesión cicatrizada (Figura 10), también se expresó como porcentaje de cicatrización, este fenómeno se produce debido a la diferenciación de fibroblastos en miofibroblastos que tienen capacidad contráctil, promueven la resistencia a la tracción y unión de los bordes de la herida. El tratamiento con mayor eficacia de cicatrización fue la crema a base de aceite de aguaje y oleorresina de copaiba con una eficacia de 57,4% respecto a la piel sana, seguido por la crema a base de aguaje con 43,0%, la crema Cicalfate con 40,5%, la crema a base de copaiba con 36,1% y por último la base de la crema que mostró una eficacia de 14,8% igual porcentaje que la lesión no tratada (Figura 11). Los cortes histológicos corroboraron los resultados, observándose en la piel tratada con la crema a base de aguaje y copaiba inicios

de reepitelización, presencia de tejido de granulación, en la dermis se aprecia aumento de colágeno.

La Food Chemicals Codex⁶⁴ reporta que la oleorresina de copaiba tiene una baja absorción percutánea lo que puede haber ocasionado en nuestra investigación que la crema a base de copaiba tenga un menor porcentaje de cicatrización que las formulaciones probadas. Esto difiere de la crema a base de aguaje y copaiba la cual presentó el mayor porcentaje de cicatrización, esto es debido a que el aguaje presenta en su composición un alto contenido de ácido oleico, el cual es un excipiente usado en formulaciones tópicas como un potenciador de la absorción percutánea de muchas drogas. Por ende se deduce que este ácido graso insaturado ayudó a que los ingredientes activos de la oleorresina de copaiba se absorbieran en la piel. A esto se suma la actividad cicatrizante del aceite de aguaje en ratas, el cual fue reportado por Batista et al.²⁴ a una concentración del 10% de aceite en una crema. Es necesario para ayudar a restaurar la piel dañada asegurar la asepsia de la herida la cual se logra por las propiedades antibacterianas de la oleorresina y del aceite.

Un estudio realizado en Perú por Arroyo y col.⁶⁵ comprobó el efecto gastroprotector de la oleorresina de *Copaifera officinalis* el cual se evidenció por la reducción significativa de la úlcera local inducida con indometacina en ratas, mediante sonda metálica de acero inoxidable se administró por vía oral los diferentes tratamientos. Este estudio hace deducir que la oleorresina de copaiba tiene mayor absorción gastrointestinal.

La presencia de sesquiterpenos y diterpenos en la oleorresina de copaiba varía de acuerdo a la especie, ubicación y tiempo de recolección. A pesar que la oleorresina es muy compleja por poseer numerosos compuestos activos, son descritas algunas de las sustancias presentes en la oleorresina que poseen acción en el organismo: el bisabolol posee actividad antiinflamatoria y analgésica, β -cariofileno y el ácido caurenico poseen acción antiinflamatoria y bactericida, siendo algunas de estas propiedades conferidas también al óxido de cariofileno, el delta-cadineno posee actividad bactericida^{4,28,31}. Estudios recientes revelan que la mayoría de estos compuestos poseen una actividad aumentada en conjunto. Un ejemplo es la investigación realizado por Fernandes et al.³⁴ estudiaron el efecto analgésico y

antiinflamatorio de la oleorresina de *Copaifera cearensis*, comparado con la indometacina y con algunos derivados aislados de la oleorresina como el ácido copálico, el éster metílico de ácido solidago y bisabolol. Los resultados del estudio indicaron que la oleorresina posee actividad antiinflamatoria y analgésica mayores que los tres compuestos estudiados aisladamente, pero menores que la indometacina. Todo esto indica que la oleorresina de copaiba es una importante fuente de principios activos en farmacología.

La crema a base de aguaje tuvo un mayor porcentaje de cicatrización que la crema a base de copaiba y la crema patrón Cicalfate, esto llama la atención dado que solo hay un estudio donde se reportó la actividad cicatrizante del aceite de aguaje en comparación con múltiples estudios acerca de la oleorresina de copaiba realizados en Brasil donde demuestran su eficacia de cicatrización. Según Martins et al.⁶⁶ señalan que los carotenoides y la vitamina E en forma de α -tocoferol presentes en el aceite de aguaje tienen un efecto beneficioso en el proceso de reparación de los tejidos mediante la unión a los radicales libres producidos en la piel dañada y de este modo protegen la membrana celular de la peroxidación lipídica. En conjunto estos compuestos antioxidantes como beta caroteno y vitamina E ejercen efecto protector sobre las nuevas células que se forman en la lesión. Por otro lado, según Santos et al.⁵ señala que las altas concentraciones de ácidos grasos insaturados tienen un importante papel en la regeneración de tejidos, siendo un importante elemento para la formación de depósitos de fibras de colágenos sobre una cicatriz, además de promover la estimulación y proliferación celular.

VI. CONCLUSIONES

- El aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. y la oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* cumplen con las especificaciones de control de calidad.
- La crema dermocósmetica a base de *Mauritia flexuosa* L. f. y *Copaifera reticulata* var. *peruviana* presenta efecto regenerador de la piel lesionada en ratones *Mus musculus* Balb c.
- El estudio de estabilidad acelerada demostró que la formulación es estable ya que cumple con los criterios de aceptación como son los organolépticos, fisicoquímicos y microbiológicos.

VII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar una tecnología para separar mecánicamente la pulpa del fruto, para evitar el trabajo a mano y la contaminación de la pulpa.
- Realizar estudios de estabilidad a largo plazo de las cremas dermocosméticas a base de aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. (aguaje), oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* (copaiba) y ambos lo cual permita comprobar si se mantiene las mismas características al transcurrir un periodo determinado de tiempo en condiciones normales de almacenamiento y al mismo tiempo establecer la vida útil del producto.
- Emplear el aceite de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje” y la oleorresina de *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba” en diversas formulaciones cosméticas y farmacéuticas ya que estos pueden actuar como agentes activos o como excipientes.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almirall I, González HM. Fernández T, Díaz M. Desarrollo de una crema cosmética con extracto de *Spirulina platensis* cubana. Rev Cubana Farm [Internet]. 2005 [citado 21 Nov 2012]; 39(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300008&lng=es
2. Fernandez y col. Acta Bioclínica Comunicación Corta C. 2012;11–5.
3. Wilkinson JB y Moore RJ. Cosmetología de Harry. Ediciones Díaz de Santos S.A. Madrid, 1990.
4. Fernandes V, Petry C, Martinez R, Pastore F. Plantas da Amazônia para Produção Cosmética. Silva C. R; 2002.
5. Zanatta CF, Mitjans M, Urgatondo V, Rocha P, Vinardell MP. Photoprotective potential of emulsions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) against UV irradiation on keratinocytes and fibroblasts cell lines. Food Chem Toxicol [Internet]. Elsevier Ltd; 2010;48(1):70–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.09.017>
6. Santos A, Ueda-Nakamura T, Dias B, Veiga B, Pinto A, Nakamura C. La actividad antimicrobiana de los aceites de copaiba brasileños obtenidos a partir de diferentes especies de la *Copaifera* género Inst. Oswaldo Cruz, 2008; 103: 277-281.
7. Mendonca D, Onofre S. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba - *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). Rev. bras. farmacogn. [online]. 2009; 19(2b):577-581. ISSN 0102-695X. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400012>.
8. Basile AC, Sertie JAA, Freitas PCD, Zanini AC 1988. Anti-inflammatory activity of oleoresin from Brazilian *Copaifera*. J Ethnopharmacol 22: 101-109.
9. Brito N, Simões M, Gomes P, Pessoa A, Melo M. Aspectos microscópicos da cicatrização de feridas cutâneas abertas tratadas com óleo de copaíba em ratos. Rev. Par. Med. 1999; 13:12–17.
10. Paiva L, De Alencar K, Santos F, Gramosa N, Silveira E & Rao V. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. Phytotherapy Research.2002; 16 (8): 737-9.

11. Estevão L, De Medeiros J, Scognamillo M, Baratella L, Guimarães E, Da Câmara C, & Evêncio J. Neoangiogênese de retalhos cutâneos em ratos tratados com óleo de copaíba. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília 2009; 44(4), 406-412.
12. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. 2004. 1era ed. Guía de estabilidad de productos cosméticos. Brasilia. 11 pp. Extraído 3 de Agosto del 2010 desde http://www.anvisa.gov.br/esp/cosmeticos/guia_serie_tematica_cosmeticos_espanhol.pdf.
13. Campos J. Biólogo Colegiado-Nº 3796- Inscrito con el Nº 36 en el registro de profesionales que realizan certificación de identificación taxonómica de especímenes y productos de flora-resolución directoral Nº 0311-2013-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS
14. Del Castillo D, Otárola E, Freitas L. Aguaje. La Maravillosa palmera de la Amazonía. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana [Libro en Internet]. Iquitos, Perú, 2006 [consultada 15/02/2015]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/I028.pdf>
15. Balick M. Palmas Neotropicales: nuevas fuentes de aceites comestibles. *Interciencia*.1982; 7(11):25-29
16. Rojas R. En: Fundación Peruana para la Conservación de la Naturaleza – ProNaturaleza. Estudio de las cadenas productivas de aguaje y tagua, Reserva Nacional Pacaya Samiria, Loreto – Perú. 2006.
17. Kahn F, Moussa F. Las palmeras del Perú. Inst. Fr. Estad. Andin. IFEA. Lima, Perú; 1994. 180p.
18. Delgado C, Couturier G, Mejía K. *Mauritia flexuosa* (Arecaceae: Calamoideae), an Amazonian palm with cultivation purposes in Perú. *Fruits*. 2007; 62:157-159.
19. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales y Andinos “Bartolome de las Casas”. Cuzco: CBC; 1999.
20. Vásquez PG, Freitas L, Sotero V, Paván R, Mancini-Filho J. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L.f, from the Peruvian Amazon. *Grasas y Aceites* [Internet]. 2010 Dec 30;61(4):390–7. Available from:

<http://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1049/1059>

21. Trevejo E. Avances de la investigación en frutos oleaginosos de la Amazonia Peruana. CONCYTEC-UNAP. 2003, 59-83.
22. Quispe F, Ayala M, Inguza G, Landeo E, Pascual G. Caracterización de aceites, tortas y harinas de frutos de Ungurahui (*Jessenia polycarpa*) y aguaje (*Mauritia flexuosa* L.) de la amazonia peruana. Rev. Soc. Quim. Peru. 2009; 75(2):243-253
23. Gomes A, De Freitas P, Nunes R, Gomes R, Scherer R, Lopes M et al. Application of the Essential oil from Copaiba (*Copaifera langsdorfii* Desf.) for Acne Vulgaris: a Double-Blind, Placebo Controlled Clinical Trial. Altern Med Rev. 2012; 17(1):69-75.
24. Batista JS, Olinda RG, Medeiros VB, Rodrigues CMF, Oliveira AF, Paiva ES, et al. Atividade antibacteriana e cicatrizante do óleo de buriti *Mauritia flexuosa* L. Ciência Rural. 2012;42(1):136–41.
25. Zanatta CF, Sato F, Camargo J, Campos P, Rocha PA. Rheological behavior, zeta potential, and accelerated stability tests of Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) emulsions containing lyotropic liquid crystals. Drug Dev Ind Pharm. Enero de 2010; 36(1):93-101.
26. Durães J, Drummond A, Pimentel T, Murta M, Bicalho F, Moreira S, et al. Absorption and photoluminescence of Buriti oil/polystyrene and Buriti oil/poly(methyl methacrylate) blends. Eur Polym J. diciembre de 2006; 42(12):3324-32.
27. Silva R, Vieira G. Sustainability of extraction and production of copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oleoresin in Manaus, AM, Brazil, Forest Ecology and Management. 2008; 256:282-288.
28. Veiga J, Pinto A. The genus *Copaifera* L. Quim Nova. 2002; 25(2), 273-286.
29. Bruneton J.; Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie; Lavoisier: Paris, 1987, p. 585.
30. Lawrence B. Progress in essential oil. Natural Flavor and Fragrance Materials 1980, 5, 32.
31. Veiga V, Rosas E, Carvalho M, Henriques M, Pinto A. Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber

- ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne- a comparative study. J Ethnopharmacol 2007; 112:248-254.
32. Food Chemical Codex, 2nd ed., Washington: DC, 1972, p 218.
 33. Fernandes R, Pereira N, & Paulo L. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam (*Copaifera cearensis* Huber). Rev. Bras. Farm. 1992; 73(3):53-56.
 34. Martini C. Materias primas utilizadas en la formulación cosmética de productos tópicos cutáneos. Introducción a la Dermofarmacia y a la Cosmetología. Acribia S.A., Zaragoza-España; 2005.
 35. Salvat J. La piel. Enciclopedia salvat de la salud. Tomo 7, 94-98. Barcelona, España; 1983.
 36. McGrath J, Eady RA, Pope F. Rook's Textbook of Dermatology (7th edición). 2004, 3.1–3.6.
 37. Menéndez B, Parra A, Pavón V, Dominguez C, Martinez O, Sardinas I, Muñoz A. Actividad Cicatrizante y Ensayos de Irritación de la Crema de *Calendula officinalis* al 1%. Latin American Journal of Pharmacy. 2007; 26(6): 811.
 38. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. The American Journal of Surgery. 1998; 176 (2): 26S-38S.
 39. Robbins C. Inflamación, Patología Estructural y Funcional. 4ta. México DF. Edición Volumen I. Editorial Interamericana., 2001.
 40. Midwood K, Williams L, and Schwarzbauer J. 2004. Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2004; 36 (6): 1031-1037.
 41. Villarreal Carbajal A. Formulación de una nanoemulsión dermocosmética, nutritiva y regeneradora de la piel [tesis magíster] Venezuela, Universidad de Los Andes; 2004.
 42. Márquez R. Aprovechamiento tecnológico de la cera de abeja para la obtención de productos sintéticos orgánicos, no tóxicos para el ser humano. Universidad de Los Andes. 2015
 43. Villacís Vargas C. Elaboración y comprobación de la eficacia in vivo de crema humectante con extracto de tomate (*Lycopersicum esculentum*, Solanáceae) y arazá (*Eugenia stipitata*, Myrtáceae) [Tesis Magíster]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana, 2014.

44. Camps I, Corona M, Medina C, Bruzón C, Ibáñez M. Eficacia de la crema de aloe al 25% en la estomatitis subprotésica grado II. Revista Cubana de Estomatología [revista en internet] 2007;44(3) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072007000300009&lng=es.
45. Bell C. Evaluación clínica de crema facial a base de enjundia de gallina (*Gallus gallus*) para el tratamiento de las arrugas. Universidad Alas Peruanas. 2014
46. Vila Jato J. Tecnología Farmacéutica. Editorial Síntesis. Madrid. 1997.
47. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito - Ecuador. Norma Técnica Ecuatoriana. Grasas y aceites comestibles INEN 0027, 0035, 0036, 0037, 0038, 0040, 0042.
48. Farmacopea Española, 4^{ta} Edición, 2002.
49. Brookfield Engineering Laboratories, INC. Instrucciones de Funcionamiento. Viscosímetro Brookfield Modelo LVDVE. USA. 2010
50. Real Farmacopea Española. 4^{ta} Edición .Eficacia de la conservación antimicrobiana. Textos generales sobre la esterilidad. 2002.
51. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito - Ecuador. Norma Técnica Ecuatoriana. NTE INEN 2867 Productos cosméticos requisitos.
52. Elsner P y Maibach HI. Cosmeceuticals: Drugs vs. Cosmetics. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 2000.
53. Villegas L, Fernández I, Maldonado H, Torres R, Zavaleta A, Vaisberg A, et al. Evaluation of the wound -healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. J of Ethnopharmacol.1997; 55(3):193-200.
54. Ferreira, BS, De Almeida CG, Faza LP, De Almeida A, Diniz CG, Silva V & Le Hyaric M. Comparative properties of amazonia oils obtained by different extraction methods. Molecules. 2011; 16(7):5875-5885.
55. Codex Alimentarius. Norma general Del Codex para grasas y aceites comestibles no regulados por normas individuales, 1989.
56. Lawson H. Aceites y grasas alimentarios, tecnología, utilización y nutrición. Zaragoza, España: Editorial Acribia. S.A.; 1999.
57. Sotero C, Dávila E, Mejia K, Vela J, García D. Caracterización de la fracción insaponificable y estabilidad del aceite de tres palmeras del género *Attalea*. Folia Amaz. 2010;19:33–40.

58. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editors. Handbook of pharmaceutical excipients. 6th ed. London: Pharmaceutical press; 2009.
59. Alvear Rosero S. Estudio de estabilidad acelerada en cremas formuladas con aceites de frutos de tres especies vegetales: morete (*Mauritia flexuosa*), chonta (*Bactris gasipaes*) y sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) [Tesis Doctoral]. Quito, Universidad Politécnica Salesiana; 2012.
60. Zanatta CF, Ugartondo V, Mitjans M, Rocha-Filho PA, & Vinardell MP. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. Food and chemical toxicology. 2010; 46(8):2776-2781.
61. Kligman AM. (The identification of contact allergens by human assay. III. The maximization test. A procedure for screening and rating contact sensitizers. / J invest. Derm. 1996; 47:393.
62. Kligman A. J. Invest. Derm. 1966, 47:393-409
63. López J. Cirugía oral. España: Interamericana, McGraw-Hill, Madrid, 1992.
64. Food Chemicals Codex (1972). 2nd ed. Prepared by the Committee on Specifications. National Academy of Sciences-National Research Council Publ. 1406, Washington, D.C.
65. Arroyo J, Almora Y, Quino M, Martínez J, Condorhuamán M, Flores M. et al. Efecto citoprotector y antiseoretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. An la Fac Med. 2009;70(2):89–96.
66. Martins M, Yamaguchi D, De Moraes F, Ghiraldelli L, Adamante W, Pedreira J. Ração suplementada com vitaminas C e E: influencia a resposta inflamatória aguda em tilápia do Nilo. Ciência Rural. 2008; 38(1):213-218 Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n1/a34v38n1.pdf>>. Acesso em: 01 set. 2011. doi.org/10.1590/S0103-84782008000100034.

IX. ANEXOS

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Móvil: 980170139 RPM: 963689079
RD N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, Srta: YARINGAÑO MOREANO, JOSELYN MARTHA; estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación científica, ha solicitado la identificación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de “aguaje”, la muestra ha sido determinada científicamente como *Mauritia flexuosa* L. f., y en el Sistema de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Liliopsida
SUBCLASE	: Arecidae
ORDEN	: Arecales
FAMILIA	: Arecaceae
GENERO	: <i>Mauritia</i>
ESPECIE	: <i>Mauritia flexuosa</i> L. f.

Nombre vulgar: “aguaje”

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 15 de julio del 2014





José R. Campos de la Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jirón Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07. Email: iocamde@gmail.com

Figura 18. Clasificación taxonómica *Mauritia flexuosa* L. f.

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ

CONSULTOR BOTÁNICO

C. B. P. N° 3796

Móvil: 980170139

RPM: 963689079

RD N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, Srta: YARINGAÑO MOREANO, JOSELYN MARTHA; estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación científica, ha solicitado la identificación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de “copaiba”, de la cual se ha extraído el “aceite de copaiba”, la muestra vegetal con flores y frutos ha sido determinada como *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, y en el Sistema de Arthur Cronquist, ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Rosidae
ORDEN	: Fabales
FAMILIA	: Fabaceae
GENERO	: <i>Copaifera</i>
ESPECIE	: <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer


Sinónimo: *Copaifera reticulata* var. *peruviana* J.F. Macbr.

Nombre vulgar: “copaiba”

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 15 de julio del 2014




José R. Campos de la Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jirón Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07. Email: iocamde@gmail.com

Figura 19. Clasificación taxonómica *Copaifera reticulata* var. *peruviana*



Figura 20. Aceite de aguaje y oleorresina de copaiba



Figura 21. Índice de saponificación del aceite de aguaje y oleorresina de copaiba



Figura 22. Medición del índice de refracción



Figura 23. Índice de yodo por análisis volumétrico



Figura 24. Índice de acidez por titulación



Figura 25. Formulación de las cremas dermocosméticas a base de *Mauritia flexuosa* L. f. “aguaje”, *Copaifera reticulata* var. *peruviana* “copaiba” y una mezcla de ambas



Figura 26. Test de sensibilidad e irritación

Voluntarios mostrando zona con aplicación de la crema de copaiba, crema de aguaje + copaiba y crema de aguaje



Figura 27. Evaluación de la viscosidad de las cremas en el estudio de estabilidad acelerada

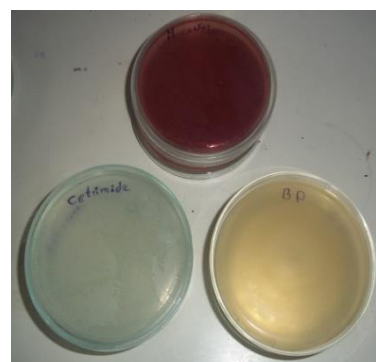
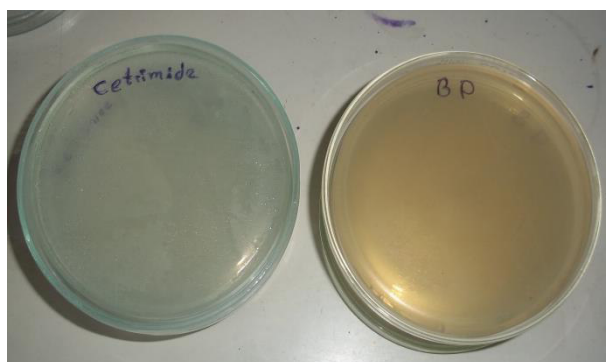
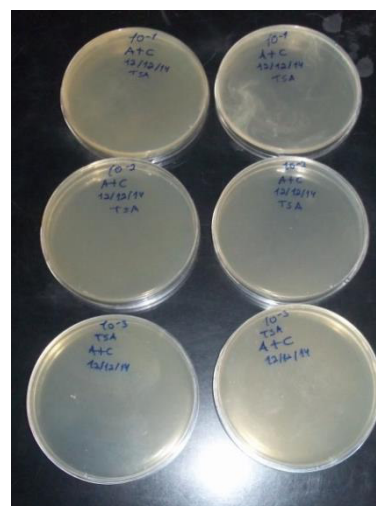
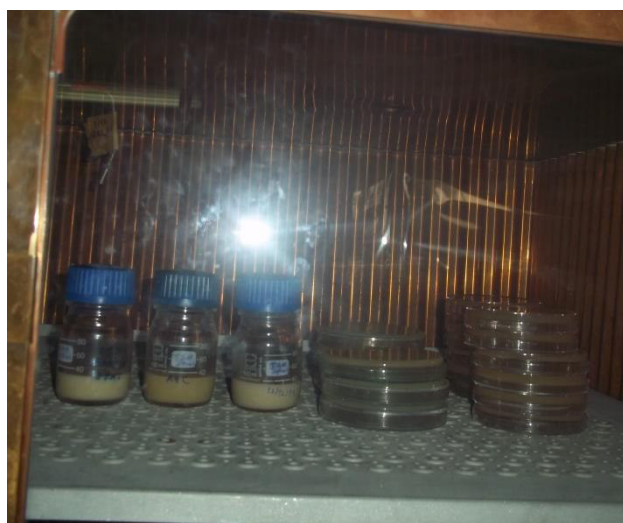


Figura 28. Análisis de control microbiológico de las cremas dermocosméticas evaluadas en el estudio de estabilidad acelerada



Figura 29. Patrón crema reparadora Cicalfate



Figura 30. Material biológico



Figura 31. Pesada del material biológico

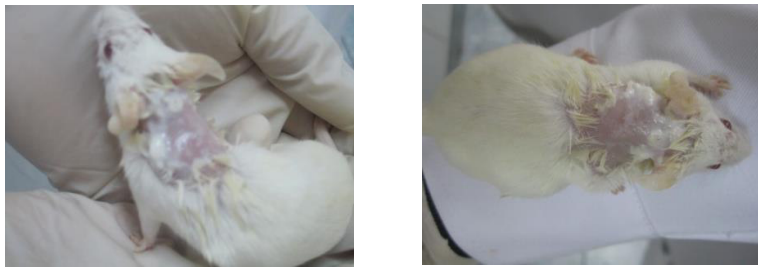


Figura 32. Aplicación de la crema depilatoria

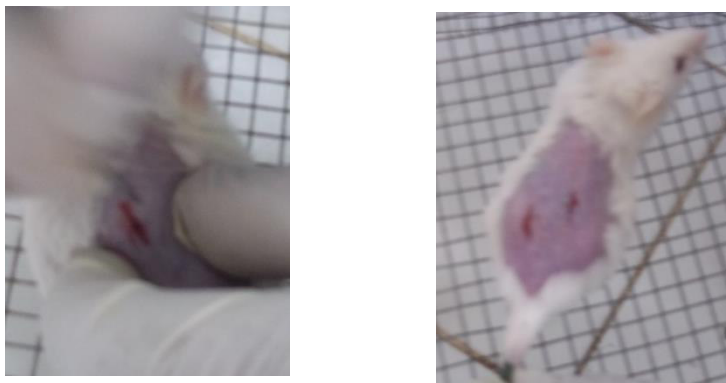


Figura 33. Incisión



Figura 34. Eutanasia de los ratones por una sobredosis de pentobarbital sódico.



Figura 35. Cicatrización por el método tensiométrico

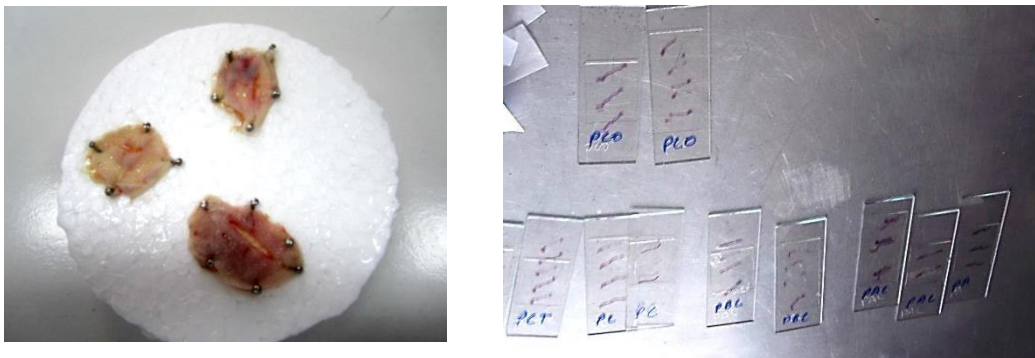


Figura 36. Evaluación histológica